

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N° 35

THESE

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

par

SIROT Jacques

né le 9 avril 1942

à LIMOGES (Hte-Vienne)

Présentée et soutenue publiquement le 24 septembre 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REACTION
D' INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION
APPLIQUEE AU VIRUS DE LA RUBEOLE
DANS LE DIAGNOSTIC DE CETTE INFECTION

Président	: M. VAURS	Professeur
Membres du Jury	: M. WILLEMIN-CLOG	Professeur
	M. BAUDON	Professeur
	M. CLUZEL	Professeur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N°

THESE

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

par

SIROT Jacques

né le 9 avril 1942

à LIMOGES (Hte-Vienne)

Présentée et soutenue publiquement le 24 septembre 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REACTION
D' INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION
APPLIQUEE AU VIRUS DE LA RUBEOLE
DANS LE DIAGNOSTIC DE CETTE INFECTION

Président	: M. VAURS	Professeur
Membres du Jury	: M. WILLEMIN-CLOG	Professeur
	M. BAUDON	Professeur
	M. CLUZEL	Professeur

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER
Directeur Honoraire : M. MERLE
Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET,
MM. BUREAU, POMME.

I - PROFESSEURS TITULAIRES

MM. BARRIER	Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	Chimie Biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	Clinique Obstétricale
BERGER	Chimie Analytique
BERGERON	Pathologie Médicale
COULET	Botanique et Microbiologie
CUVELIER	Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	Biochimie Médicale
DAUPHIN	Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	Anatomie Pathologique
FEBVRE	Pharmacie Galénique
GRAS	Clinique Médicale
JACQUEMET	Technique Chirurgicale
JALLUT	Sémiologie Médicale
LATAIX	Pathologie Chirurgicale
MERCIER	Anatomie
MEYNIEL	Biophysique Médicale
MOLINA	Clinique Pneumo-Phtisiologique
PETIT	Médecine Légale et Médecine Sociale
POROT	Clinique Neurologique et Psychiatrique
POURRAT	Matière Médicale
Mlle RAMPON	Thérapeutique
ROUHER	Clinique Ophtalmologique
TERRASSE	Clinique Médicale B
THIEBLOT	Physiologie
THOMAS	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	Pharmacie Chimique
TURCHINI	Histologie et Embryologie
VAURS	Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	Clinique Médicale Infantile

II - PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

M. CHAMPEIX	Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	Electro-Radiologie

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. ALFIERI	Biophysique Médicale
CLUZEL	Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	Physiologie
GERMAIN	Clinique Chirurgicale B
MENUT	Pédiatrie et Puériculture

IV - MAITRE DE CONFERENCES AGREGES

M. BOSSY	Anatomie
Mle CHATONIER	Chimie Minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	Médecine Générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	Médecine Générale
Mme POURRAT	Botanique
M. VENRIES DE LAGUILLAUMIE	Anatomie Pathologique

V - A G R E G E S

MM. FOURRIER	Orthopédie
HOUDARD	Chirurgie Générale
JANNY	Neuro-Chirurgie
RENARD	Pneumo-Phthisiologie
TOURNILHAC	Neurologie et Psychiatrie

VI - DELEGUES DANS LES FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

MM. JARREAU	Matière Médicale
MALET	Histologie et Embryologie
MARCHEIX	Médecine Générale et Thérapeutique
PLAGNE	Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation (Délibération en date du 6 juin 1956).

A MA FEMME,

Avec ma plus tendre affection.

A MES PARENTS,

Que ce travail soit un témoignage de
l'affection et de la reconnaissance que
je leur porte.

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur VAURS

Professeur de Bactériologie et Hygiène
Chevalier de la Légion d'Honneur
Commandeur des Palmes Académiques
Officier de la Santé Publique

Il nous a accueilli dans son laboratoire
avec beaucoup de bienveillance et nous
fait le grand honneur d'accepter la
présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre reconnaissance et de notre pro-
fond respect.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur WILLEMIN-CLOG
Professeur de Clinique Médicale Infantile
Médecin des hôpitaux
Officier de la Légion d'Honneur
Croix de guerre 1914-18
Officier des Palmes Académiques

Il nous fait l'honneur de bien vouloir nous
juger. Qu'il trouve ici le témoignage de
notre respectueuse considération.

Monsieur le Professeur BAUDON
Professeur de Clinique Obstétricale
Médecin des Hôpitaux
Officier des Palmes Académiques
Chevalier de la Santé Publique

Il nous a donné la possibilité de réunir
les nombreuses observations dont nous
avons besoin. Qu'il nous soit permis de
lui exprimer ici notre profonde reconnais-
sance.

Monsieur le Professeur CLUZEL
Professeur de Bactériologie
Chevalier des Palmes Académiques

Il nous a fait l'honneur de nous confier
ce travail.

L'aide bienveillance qu'il nous a toujours
accordée au cours de nos recherches nous
a fait apprécier ses grandes qualités
humaines et scientifiques.

Qu'il trouve ici l'expression de notre
fidèle attachement et de notre gratitude.

A Monsieur le Docteur MARCHEIX

Nous avons eu la chance, au cours de
nos études, de bénéficier de son ensei-
gnement.

Nous tenons à lui exprimer ici toute
notre reconnaissance.

INTRODUCTION

Décrite en Allemagne dès 1752 par BERGEN, la rubéole est mieux connue depuis le travail original de GREGG (33), en 1941, confirmé plus tard par de nombreuses publications (49 - 47 - 63 - 120 - 54) : elle serait en effet la plus bénigne des fièvres éruptives si elle ne pouvait, quand elle survient au cours du premier trimestre de la grossesse, être responsable de nombreuses anomalies du développement embryonnaire.

Mais les problèmes cliniques et épidémiologiques posés par la rubéole, ainsi que ceux de sa prévention, ne pouvaient être résolus en l'absence de méthodes biologiques capables de déceler cette infection, aussi bien chez l'enfant et l'adulte que chez le nouveau-né dont la mère a été atteinte pendant sa grossesse.

Dès que l'isolement du virus put être réalisé, en 1962 (76 - 121), les études cliniques, virologiques et immunologiques prirent un développement considérable :

- 1 - Nous essaierons, dans un premier chapitre, de faire une mise au point des recherches virologiques consacrées à la rubéole pendant ces cinq dernières années.
- 2 - Nous disposons actuellement de plusieurs méthodes pour déceler les anticorps élaborés au cours et au décours de la rubéole. Mais la réaction d'inhibition de l'héماغglutination, mise au point depuis la découverte du pouvoir héماغglutinant du virus rubéoleux par STEWART et PARKMAN (111) vers la fin de l'année 1966, présente de nombreux avantages et fera l'objet de notre deuxième chapitre.
- 3 - Enfin, dans un dernier chapitre, nous verrons comment interpréter les résultats obtenus par cette technique et quelles sont les possibilités thérapeutiques et prophylac-

tiques qui s'offrent à nous pour l'instant,
car nous devrions bientôt disposer d'un
vaccin anti-rubéoleux.

CHAPITRE I

MISE AU POINT SUR LE VIRUS DE
LA RUBEOLE

-

I - CARACTERES GENERAUX DU VIRUS

A - POUVOIR PATHOGENE

1 - L'INFECTION NATURELLE -

=====

Depuis longtemps soupçonnée, la nature virale de l'agent infectieux de la rubéole n'a été mise en évidence qu'en 1962 lorsque PARKMAN et BUESCHER (Washington) d'une part (76), WELLER et NEVA (Boston) d'autre part (121) réalisèrent pour la première fois la culture du virus.

Cette affection endémo-épidémique touche surtout les enfants, mais aussi les adultes.

ETUDE CLINIQUE :

A - LA RUBEOLE DE L'ENFANT ET DE L'ADULTE -

Dans la forme typique, les premiers symptômes apparaissent en moyenne dix-huit jours après le contagage, mais parfois dès le quatorzième ou seulement le vingt-troisième jour.

L'invasion est courte, caractérisée par un léger catarrhe et des adénopathies sous-occipitales et mastoïdiennes.

A la période d'état, les adénopathies peuvent se généraliser et l'éruption est observée à la face, puis peut s'étendre à tout le corps. Elle est constituée par des éléments maculo-papuleux rose pâle, mais peut prendre un aspect scarlatiniforme ou morbilliforme, ces deux aspects pouvant être constatés en des points différents des téguments. La fièvre est peu élevée.

L'éruption persiste pendant deux ou trois jours ; les complications sont exceptionnelles.

On connaît, depuis les observations de GREGG (33) la fréquence et la gravité des embryopathies provoquées par la rubéole lorsqu'elle atteint la femme enceinte surtout pendant les trois premiers mois de la grossesse, mais également au cours des mois suivants (45 - 105). L'infection maternelle et la rubéole congénitale méritent donc toute notre attention.

B - LA RUBEOLE CONGENITALE -

1^o - Données fondamentales récentes :

En 1964, une épidémie de rubéole touchant près de deux millions de personnes sévit dans plusieurs états des USA, à la suite de laquelle plus de 20 000 enfants naquirent avec des malformations congénitales majeures. Dans ces circonstances, les acquisitions récentes sur les méthodes d'isolement du virus permirent des études cliniques et virologiques très précises qui conduisirent à élargir la conception classique de la rubéole et aboutirent à la description d'une rubéole congénitale évolutive du nouveau-né (31 - 115 - 11 - 71).

En effet, un enfant infecté dès le stade embryonnaire est porteur du virus non seulement durant toute la vie foetale, mais encore six mois et quelquefois davantage après la naissance.

2° - D'importantes notions doivent être rappelées avant d'étudier les manifestations cliniques de la rubéole congénitale.

a) Un certain nombre de rubéoles sont inapparentes :

AVERY (3) a pu isoler le virus de la rubéole chez des nouveaux-nés présentant diverses manifestations pathologiques évocatrices. Les mères avaient été exposées à la maladie pendant le premier trimestre de leur grossesse, mais n'avaient pas présenté de symptômes cliniques.

La rubéole peut donc être transmise au fœtus en l'absence de maladie apparente chez la mère.

En ne retenant que les cas de rubéole congénitale confirmés par l'isolement du virus chez le nouveau-né, on constate que, dans 20 à 25 % de ces cas, la mère avait eu une rubéole sans manifestations cliniques apparentes (11).

De même, la rubéole congénitale peut être asymptomatique. SCHIFF (98), pendant l'épidémie de 1964 a montré que 75 % des enfants porteurs du virus à la naissance étaient cliniquement normaux. Pour ces enfants, dans 90 % des cas, on ne retrouvait pas d'antécédents de rubéole maternelle pendant la grossesse.

b) Quand il est question de contagion rubéoleuse, il faut penser aux fréquentes erreurs de diagnostic. La seule clinique est bien sûr insuffisante pour affirmer le diagnostic étiologique d'une fièvre éruptive dont les symptômes sont souvent trompeurs, fugaces et les agents étiologiques très divers : nombre d'éruptions dues à d'autres virus (en particulier aux entérovirus : Echovirus type 16 par exemple) peuvent simuler la rubéole.

La technique d'inhibition de l'hémagglutination pour la rubéole que nous allons étudier, permettra facilement d'infirmer ou de confirmer le diagnostic dans ces cas difficiles.

c) La rubéole maternelle peut être un facteur d'avortement :

- 14 % des cas pour LUNDSTROM (54),
- 9,5 % des cas pour MANSON (63),
- SEVER ne confirme pas cette notion (105), mais cet auteur ne tient pas compte des avortements très précoces.

3^e - Manifestations cliniques de la rubéole congénitale :

a) La prématurité n'existe pas semble-t-il. Par contre le poids de naissance est le plus souvent inférieur à la normale. L'hypotrophie pondérale serait d'autant plus importante que la maladie est plus grave (108 - 93).

b) La taille est inférieure à la normale (47,8 cm).

c) Le syndrome malformatif : la fréquence des cardiopathies est considérable, HEGGIE l'estime à 79 % des rubéoles congénitales (39). La persistance du canal artériel est le plus souvent rencontrée.

Les manifestations oculaires existent dans 53 % des rubéoles congénitales. Ce sont :

- La cataracte (30 à 50 % des cas),
- Le glaucome (3 à 4 % des cas),
- La microphthalmie est possible.

Les manifestations auditives : 30 % des cas.

Il s'agit d'une surdité de perception due à un trouble de développement de l'organe de Corti et de la cochlée.

L'importance des manifestations neurologiques est très difficile à préciser, mais semble faible (115). On a signalé : retard mental, microcéphalie, perturbations E.E.G., hyperalbuminorachie.

d) Le syndrome évolutif post-natal :

- Le purpura thrombocytopénique existe dans 58 % des rubéoles congénitales (39 - 23). Il est présent dès la naissance ou apparaît aussitôt après et guérit en général spontanément.

- L'anémie est beaucoup moins souvent citée ; c'est une anémie hémolytique qui peut durer plusieurs mois (23).

- L'hépatomégalie est présente dans 65 % des rubéoles congénitales et peut persister des mois (23).

- Les manifestations osseuses sont mises en évidence dans 36 % des cas (39). Les plus typiques siègent aux métaphyses des os longs (fémurs et tibias surtout). Elles n'ont pas de traduction clinique ou biologique. Semblent pathognomoniques, une ligne de calcification métaphysaire mal définie et une trabéculatation grossière avec des zones radiotransparentes et opaques disposées en bandes longitudinales. Ces lésions disparaissent en moins de trois mois si l'état général de l'enfant est bon.

Il n'y a jamais de périostite, ce qui distingue les lésions osseuses de la rubéole de celles de la syphilis.

- En dehors de ces syndromes fréquents et caractéristiques, d'autres manifestations de la rubéole congénitale ont été décrites ; nous ne pouvons toutes les énumérer ici.

C - LE RISQUE DE CONTAMINATION TRANS- PLACENTAIRE AU COURS DE LA RUBEOLE DE LA FEMME ENCEINTE -

Sur ce point d'importance fondamentale, les appréciations varient suivant les auteurs.

En 1958, M. LAMY et M^{lle} SEROR (49) concluaient que lorsque la mère avait eu la rubéole de la première à la septième semaine de grossesse, 95 % des nouveaux-nés étaient porteurs de malformations. Ce pourcentage tombait à 86 si l'on incluait la huitième semaine. Mais de la neuvième à la vingtième semaine, 20 % seulement des enfants étaient atteints. Les études récentes ont beaucoup atténué le pessimisme des premières enquêtes dans l'évaluation des risques courus par l'embryon et le fœtus.

Le risque foetal, selon HEGGIE (39) est de 10 à 30 % pour une rubéole maternelle du premier trimestre.

Pour PITT (86), le danger serait maximum durant le premier mois (de l'ordre de 50 à 60 %) et diminuerait régulièrement pour n'être plus que faiblement significatif (5 %) au quatrième mois.

Cette limite du quatrième mois est d'ailleurs retrouvée par la majorité des auteurs, quels que soient les critères utilisés pour le diagnostic de la rubéole.

Dans les statistiques récentes où le diagnostic a toujours été confirmé par les réactions sérologiques, le risque tératogène apparaît de 23 % au cours du premier trimestre de la grossesse, de 7 % au cours du second (45 - 105).

D - L'INFECTION INTRA-UTERINE ET SON DEVELOPPEMENT -

1^{re} - Passage du virus à travers le placenta :

Les travaux d'ALFORD, NEVA et WELLER (1) ont montré que le virus de la rubéole peut être isolé des différents produits de la conception dans 50 % des cas environ.

Lorsque la rubéole est apparue au cours de huit premières semaines de la gestation, le virus a été isolé à la fois du placenta et des tissus de l'embryon.

Par contre, si l'infection survient après la huitième semaine, le virus est plus fréquemment isolé du placenta que des tissus embryonnaires eux-mêmes.

On peut se demander si cette différence s'explique par la maturation du placenta ou par la maturation du fœtus et sa capacité de résister à l'infection virale (11).

2^{de} - Infection virale chronique :

Le virus de la rubéole réalise une infection chronique du fœtus.

Pendant la gestation, le virus se multiplie dans tous les organes de l'embryon, d'où il a pu être isolé, montrant bien le milieu extraordinairement favorable que représentent les tissus embryonnaires pour sa multiplication (13 - 1).

A la naissance, le virus de la rubéole est souvent retrouvé dans la gorge des enfants atteints de malformations. Il est encore possible de l'isoler des prélèvements de gorge six mois après la naissance de ces enfants et même quelquefois au-delà (84 - 67 - 5).

Ces enfants porteurs de virus représentent une source de contagion pour leur entourage (71).

—

2 - L'INFECTION EXPERIMENTALE -

=====

Bien avant l'isolement du virus de la rubéole, les premiers essais de transmission expérimentale effectués par HIRO et TASAKA (96) en 1938, puis par HABEL en 1942 (35) sur les singes rhésus et par ANDERSON (2) en 1949 chez l'homme, avaient fait admettre l'étiologie virale de la maladie.

Depuis PARKMANN et MEYER, le développement des techniques de culture cellulaire du virus et de recherche des anticorps rubéoleux a permis d'aborder sur des bases bien définies les problèmes posés par la pathogénie, l'épidémiologie et la prophylaxie de la rubéole.

De nombreuses espèces animales (lapin, cobaye, hamster, souris...) fournissent une réponse immunologique lorsqu'elles sont infectées par le virus rubéoleux, sans faire de maladie cliniquement apparente (96).

Après inoculation par voie intra-nasale à des furets, SCHIFF (97) a retrouvé le virus dans de nom-

breux organes de ces animaux infectés. Cependant, une infection congénitale n'a pu être obtenue.

On a tenté d'inoculer le virus au singe avec des résultats variables. L'inoculation au *Macacus Rhesus* a permis d'obtenir tantôt une légère éruption maculeuse, avec leucopénie, tantôt aucun signe clinique mais l'élaboration d'anticorps neutralisants (40).

Certains auteurs, comme PARKMAN (79) et SEVER (103) ont pu étudier l'évolution de l'infection chez des singes femelles enceintes. Après inoculation au cours des quatre semaines de la gestation, le virus est retrouvé dans le placenta et dans l'amnios. Une infection prolongée ou des malformations congénitales n'ont pu être mises en évidence chez les petits singes qui présentent tous, par contre, des anticorps rubéoleux.

Dernièrement, COTLIER (24) constatait les effets de l'infection rubéoleuse sur des embryons et des rats nouveaux-nés de femelles infectées pendant leur gestation : les manifestations pathologiques et la persistance du virus relevées sur ces animaux présentent de remarquables similitudes avec celles des enfants atteints de rubéole congénitale.

L'inoculation du virus à des volontaires était nécessaire pour compléter les résultats fournis par l'expérimentation sur l'animal dont l'infection rubéoleuse reste, dans la plupart des cas, assez éloignée de la maladie humaine.

SCHIFF et coll. (97) ont inoculé par voie intranasale le virus de la rubéole obtenu en cultures de tissus à 24 hommes âgés de 21 à 28 ans.

Les sujets étaient répartis en deux groupes :

- 14 possédaient des anticorps neutralisants avant l'infection expérimentale,
- 10 ne possédaient pas d'anticorps.

Aucun signe de maladie clinique, aucun trouble

hématologique n'ont été observés chez les 14 sujets possédant des anticorps neutralisants à l'égard de la rubéole.

Les 10 sujets sans anticorps préexistants ont tous présenté des signes cliniques de rubéole.

Le virus de la rubéole n'a été retrouvé dans aucun cas, ni dans le sang, ni dans la gorge, ni dans l'urine des sujets inoculés ayant des anticorps préexistants.

Par contre chez les sujets dépourvus d'anticorps, le virus peut être isolé dans le nez et le pharynx dès le huitième jour après l'inoculation et jusqu'au début de l'exanthème, soit vers le douzième jour où l'élimination est maximum. Le virus disparaît très vite après le début de l'exanthème.

Les examens sérologiques n'ont pas montré d'augmentation sensible des taux d'anticorps sériques dans le groupe avec anticorps préexistants.

Mais une augmentation significative des taux d'anticorps a été observée dans tous les cas chez les sujets de l'autre groupe, en général, au moment du développement des signes cliniques de la maladie.

Nous verrons dans le troisième chapitre de notre travail quelles conséquences pratiques il est possible de dégager de ces résultats apportés par SCHIFF et coll.

B - MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

Les essais de filtration à travers les membranes gradacol ou millipore effectués par PARKMAN (77) avaient situé le diamètre de la particule virale entre 100 et 300 millimicrons.

Auparavant, WELLER et NEVA (121) avaient trouvé que le virus traversait en partie des filtres de 100 millimicrons.

Mc CARTHY, TAYLOR-ROBINSON et PILLINGER (59) ont relevé que le virus franchissait un filtre de 100 μ , mais pas de 71 μ .

Plus récemment, RUSSEL (94) a déterminé le coefficient de sédimentation (342 S) du virus de la rubéole et, partant, un diamètre de la particule virale de 85 millimicrons, ce qui concorde assez bien avec les résultats obtenus par ultra-filtration, à savoir 90 μ .

Depuis l'isolement du virus, bien que quelques études sur la nature de la particule virale aient été réalisées, il n'existe pas encore de description satisfaisante des caractères morphologiques du virus.

NORRBY (72) dans les premières études faites au microscope électronique, a observé des particules

virales d'un diamètre de 120 à 280 μ , formées d'une zone centrale dense, arrondie, entourée d'une large enveloppe ; il n'a pas noté de structure hélicoïdale très nette.

On n'avait pas décelé de structure interne dans la particule virale intacte, mais le traitement par le fluorocarbène qui supprime le pouvoir infectieux, avait fait apparaître une partie centrale moins dense, autour de laquelle on observait des formations en anneaux (109).

L'ensemble de ces premières constatations avait conduit à classer, provisoirement d'ailleurs, le virus rubéoleux dans le genre Paramyxovirus (109).

En 1967, BEST et BANATVALA (9) ont utilisé des complexes antigène-anticorps (suspension de culture cellulaire BHK 21 infectée par le virus rubéoleux et antisérum spécifique de lapin) pour faciliter la mise en évidence du virus de la rubéole au microscope électronique, par la méthode d'imprégnation négative. Les particules virales observées ont une forme irrégulière et 50 à 75 μ de diamètre. Elles possèdent une enveloppe amorphe polymorphe et un composant interne sphérique.

HOLMES et WARK (43), en examinant au microscope électronique des cultures de cellules R.K 13 et BHK 21 infectées avec le virus rubéoleux, ont mis en évidence dans les cellules RK 13 infectées, d'une part des inclusions cristallines, d'autre part des particules virales typiques d'un diamètre global de 60 μ , avec un noyau dense de 30 μ . Ces mêmes particules existent dans les cellules BHK 21 infectées, mais les cristaux précités ne sont pas retrouvés dans ce type de cellules.

De plus, il n'existe pas de ressemblance avec les Myxovirus. Deux types possibles de particule virale semblent donc avoir été identifiés par ces auteurs dans certaines cultures cellulaires.

HOLMES et WARBURTON (42) ont observé les particules du virus rubéoleux fixées à la surface d'héma-

ties de pigeons agglutinées par le virus : les particules virales ont un noyau dense de 30 mu de diamètre et un diamètre global d'environ 60 mu.

Une préparation concentrée et purifiée du Virus Rubéoleux a montré un grand nombre de particules sphériques, d'un diamètre de 60 à 80 mu, avec des "spicules" de 5 à 6 mu répartis à leur périphérie.

C - CARACTERES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DU VIRION

1 - CARACTERES PHYSIQUES - =====

Si, comme nous venons de le voir, les premières estimations de la taille de la particule virale ont donné des résultats variables, il semble, d'après les travaux réalisés en microscopie électronique ces dernières années, que celle-ci se situe aux environs de 60 μ .

Les études par centrifugation en gradient de densité effectuées par CUSUMANO (25) et VERONELLI (117) ont montré que la densité du virus rubéoleux qui correspond à un maximum d'infectivité se situait aux environs de 1,07 g/cm³. Ce fait laissait supposer une composition élevée en lipides ou en eau.

Les travaux plus récents de FURUKAWA (32), MAGNUSSON (62), et SCHELL (60) indiquent une densité nettement plus élevée (de 1,18 g/cm³ en gradient de saccharose, à 1,20 g/cm³ en gradient de citrate de potassium). Le virus, à cet égard, s'apparentait étroitement aux autres virus ayant une enveloppe de nature lipidique.

Enfin, COMBS et RAWLS (60) signalent que la densité du virus est de 1,16 g/cm³ après centrifugation en gradient de saccharose préparés avec de l'eau distillée ; par contre cette densité est de 1,18 g/cm³ lorsque les gradients sont préparés avec la solution tampon TRIS (TRIS-HYDROXY-METHYL-AMINO-METHANE) contenant de l'EDTA (acide éthylène diamine tétracétique). Cette différence de densité ne s'expliquerait pas par la perte d'un composant du virus, mais relèverait de l'existence d'états d'hydratation différents du virus rubéoleux, en présence ou non de tampon TRIS.

Cependant, il est encore possible que les différences de densité que l'on note dans la littérature soient dues à d'autres facteurs, tels que l'utilisation de lignées cellulaires ou de méthodes de concentration du virus différentes.

—

2 - NATURE DE L'ACIDE NUCLEIQUE : effet des inhibiteurs viraux -

La 5-fluoro-déoxy-2 uridine qui trouble la synthèse de l'ADN par son effet inhibiteur sur la thymidine-synthétase, n'a aucune influence sur la croissance du virus rubéoleux (55).

De même, la 5-iodo-déoxy-2-uridine (IDU) (26) et la 5-bromo-déoxy-2-uridine (74) n'inhibent pas la croissance du virus.

Le virus de la rubéole appartient donc, très probablement, au groupe des virus à ARN.

Il faut signaler d'autre part que l'adamantamine (56) inhibe la croissance du virus en empêchant sa pénétration dans la cellule.

3 - RESISTANCE AUX AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES -

Le virus est sensible à l'éther ; PARKMAN (77) a montré que le virus est sensible au chloroforme, au chlorure de césium et à la formaldéhyde, mais résiste au fluorocarbure 113, au merthiolate et au bisulfite de sodium, ainsi qu'aux antibiotiques antibactériens communs.

D'après SCHELL et WONG (60), le titre infectieux reste inchangé après neuf minutes d'ultra-sons ou de congélations et décongélations successives.

Le virus est rapidement inactivé par les U.V., mais non l'antigène fixant le complément.

A 37°C, dans une suspension à 2 % de sérum de poulet, le pH étant compris entre 6,8 et 8,1, la demi-vie est d'environ une heure.

A + 4°C, le virus est stable pendant une semaine et à - 60°C, les préparations sont stables pendant une année (77 - 29).

Mc CARTHY et TAYLOR-ROBINSON (57) ont retrouvé le virus dans une culture de cellules amniotiques humaines, inoculée en 1957 à partir d'un lavage de gorge chez un rubéoleux et conservée à - 60°C pendant six ans.

Enfin, le virus peut être lyophilisé de façon satisfaisante.

D - CULTURES

1 - HOTES SENSIBLES -

=====

Le virus de la rubéole peut être transmis expérimentalement à l'homme. Ceci a été réalisé par ANDERSON (2) bien avant que le virus ait été isolé, puis confirmé par SCHIFF et SEVER (97).

Les singes (79 - 103), le lapin (8), le hamster (75) et le furet peuvent également être infectés par le virus. La croissance du virus dans l'embryon de poulet n'a jamais été décrite.

—

2 - IN VITRO -

=====

Le virus de la rubéole est cultivable sur un grand nombre de lignées cellulaires et de cellules en culture de tissu.

Il est bon, à ce sujet, de rappeler la signification de cette terminologie. Les cultures de tissus (tissue culture) sont des cellules, des tissus et des organes d'origine animale, maintenus en survie ou se développant in vitro, pendant plus de vingt-quatre heures.

Dans les cultures cellulaires (cell culture), par contre, les cellules ne sont plus organisées en tissus.

Une lignée cellulaire (cell line) correspond à un seul type de cellules dont la culture a prouvé son aptitude à un certain nombre de subcultures. On parle de lignée cellulaire "continue" lorsqu'elle a montré son aptitude à se perpétuer in vitro après au moins 70 subcultures.

Nous reproduisons page 22 un tableau de Mc CARTHY et TAYLOR-ROBINSON (57) où se trouvent rassemblés les différents systèmes cellulaires utilisés pour la culture du virus.

Les difficultés d'isolement du virus de la rubéole tenaient à son comportement en cultures de tissus. En effet, il n'est pas cytopathogène pour la plupart des systèmes cellulaires habituellement utilisés : sa multiplication s'effectue sans qu'apparaissent de lésions cellulaires et l'existence de ce virus ne peut être décelée que par un effet secondaire : l'interférence virale. Les cultures cellulaires infectées par le virus de la rubéole deviennent résistantes à l'inoculation secondaire d'un deuxième virus dit "virus challenger" (Echovirus 11, Cocksackie virus A 9, ou encore virus Sindbis) qui, à lui seul, détruirait le tapis cellulaire.

Actuellement, les virologistes disposent d'autres souches cellulaires sur lesquelles le virus détermine, en se multipliant, un effet cytopathogène caractéristique.

a) Effet cythopathogène en culture cellulaire :

Une action cytopathogène est produite dans les cultures primaires de cellules amniotiques humaines

Cell and tissue cultures used for the growth of rubella virus *				
Species	Tissue culture	Références	Cell lines	Références
MAN	Primary amnion (PHA)	Weller et Neva (121)	Changliver ; Hela	Weller et Neva (121)
	Adult thyroid	Mc Carthy, Taylor-Robinson et Pillinger (59)	FL human amnion	Mc Carthy et al. (59)
	Embryonic cell strains	Plotkin, Boué et Boué (88)	HE p 2	
MONKEY	Grivet and rhésus Primary Kidney cell	Parkman, Buescher et Arntstein (76)	GMK-BSC-1 ; LLC-MK 2	Veronelli et Maassab (119)
	Patas primary kidney cell	Mc Carthy et al. (59)	GMK - AH - I GLV 3 A	Günalp (34) Beale et Christofinis (7)
RABBIT	Primary Kidney	Belcourt et Wong (8)	GLRK ₁₃	Mc Carthy et al. (59)
	Embryonic cells	Mc Carthy et Taylor-Robinson (58) Reddick et Roesel (91)	GLRK ₃ LLC - RKI SIRC Rabbit aorta *	Beale et Christofinis (7) Hull et Butorac (46) Leerhoy (51) E. O'Ryan (un published work, 1965)
HAMSTER	-	-	BHK 21	Vaheri, Sedwick, Plotkin et Maes (116)
BOVINE	Embryo skin-muscle	Weller et Neva (122)	-	-
FERRET	Organ culture of trachea	Oxford (73)	-	-
MOUSE	Embryo	K.R. Rozee (personal communication)	-	-

PHA (121) et de cellules thyroïdiennes (59) ; dans les lignées continues LLC-MK 2 (119), GMK-AH-1 (34), GLV 3 A (7) ; dans toutes sortes de cellules de lapin (59), mais surtout dans la lignée cellulaire RK 13 de rein de lapin : les effets cytopathogènes sur cellules RK 13 sont représentés, à partir du troisième jour, par des foyers éparpillés de cellules présentant une disparition du nucléole, une rétraction du noyau. Puis les lésions s'étendent et l'on peut voir de nombreux amas de cellules avec d'importantes formations de matériel granuleux éosinophile dans le cytoplasme. Vers le dixième jour, 50 % des cellules environ ont disparu (28).

Sur la souche de rein de hamster nouveau-né BHK 21, le virus rubéoleux se multiplie sans donner de lésions. Mais il a été possible d'isoler deux clones BHK 21/W 12 et BHK 21/W 13 sur lesquels le virus provoque des lésions nettement visibles (116).

La lignée continue de cornée de lapin SIRC utilisée par LEERHOY (51) présente des lésions caractéristiques dès le quatrième jour qui sont presque totales vers le dixième jour. Il s'agit tout d'abord d'une vacuolisation du cytoplasme, puis d'une densification du noyau. Le cytoplasme se rétracte et il ne reste plus bientôt que le noyau altéré.

b) Interférence en cultures de tissus :

On devrait pouvoir mettre en évidence facilement le phénomène d'interférence dans toute cellule où le virus rubéoleux se multiplie sans provoquer de lésions.

Mais le meilleur virus "challenger" varie selon le type de cellules utilisées :

- Echovirus 11 pour les cellules de rein de singe,
- Sindbis pour les cellules amniotiques humaines,
- Coxsackievirus A₉ pour de nombreuses autres cellules (70-88).

Diverses méthodes ont été proposées pour calculer le titre du virus rubéoleux (57 - 64) après inoculation du virus challenger dans la culture cellulaire infectée.

L'interféron est produit dans les cellules de rein de singe infectées par le virus rubéoleux. PARKMAN (78) a montré que sa production est encore plus importante dans les cellules amniotiques humaines et de rein de singe infectées par une souche de virus atténué destinée à la vaccination.

Par contre, certains auteurs pensent que le phénomène d'interférence ne serait pas dû à la production d'interféron.

Le mécanisme d'interférence en culture de tissus reste donc encore assez mal connu.

3 - CAS PARTICULIER DES CELLULES CHRONI- QUEMENT INFECTÉES -

Premiers éléments de pathogénie de la rubéole.

A partir de l'infection de la mère et de la virémie qui transporte le virus au niveau de l'utérus, le virus de la rubéole traverse le placenta et pénètre dans les tissus de l'embryon. Il s'établit ainsi une infection virale chronique généralisée qui peut provoquer des dommages variables et il faudra souvent des années pour en mesurer complètement l'étendue (11).

TONDURY (113), dans une étude anatomo-pathologique de 67 embryons provenant d'avortements thérapeutiques décidés à la suite d'une rubéole naturelle, a attribué à la présence du virus les lésions cellulaires observées en particulier au niveau du coeur, du cristallin et de l'oreille interne et constaté que ces

lésions n'apparaissent qu'à un certain stade de la différenciation des cellules.

NAEYE et BLANC (68), lors de l'épidémie américaine ont été frappés par la diminution du poids de l'ensemble des organes d'enfants morts-nés et atteints de rubéole congénitale, par rapport à une série témoin d'enfants morts-nés. Mais surtout, ils ont remarqué des différences dans la densité cellulaire de certains organes : ainsi dans le rein et le foie de ces enfants, le nombre des cellules reste très inférieur à la normale, bien que celles-ci soient morphologiquement normales.

Les études expérimentales poursuivies par A. BOUE et S.A. PLOTKIN (20 - 19) sur des cultures de cellules embryonnaires diploïdes humaines chroniquement infectées ont permis l'analyse de l'action du virus sur ces cellules. Cette action au niveau cellulaire pourrait expliquer les lésions observées chez l'embryon.

C'est ainsi que les études chromosomiques effectuées sur différentes souches de ces cellules (17 - 13) ont conduit aux constatations suivantes :

a) On observe une inhibition de la division cellulaire dans les souches cellulaires d'origine pulmonaire. Si l'on veut tenter un rapprochement entre cette constatation faite "in vitro" et ce qui est observé au cours des embryopathies de la rubéole, le seul élément que l'on puisse retenir est que l'action inhibitrice du virus s'exerce sélectivement sur la division de certaines cellules embryonnaires humaines (13).

b) On observe une augmentation du pourcentage des cellules présentant des cassures chromosomiques dans les souches cellulaires établies à partir des tissus cutanés et musculaires chroniquement infectés. Ces cassures s'observent dans 20 à 25 % des métaphases. Ce fait a été noté au cours d'autres infections virales, la rougeole en particulier (17).

Les études chromosomiques faites sur des tissus embryonnaires provenant de fœtus infectés à la

suite d'une rubéole maternelle, ont montré également des cassures très comparables à celles qui peuvent être induites in vitro sur des souches de cellules embryonnaires (11).

L'infection chronique des tissus embryonnaires par le virus de la rubéole s'accompagnant d'un fort pourcentage de cellules présentant des cassures de chromosomes, donc non viables, pourrait expliquer les constatations anatomiques faites par NAEYE et BLANC (68) sur des nouveaux-nés, consistant en une diminution de la densité cellulaire et du poids de certains organes et, d'une façon générale, du faible développement staturo-pondéral de ces enfants (11).

D'autres études seront nécessaires pour évaluer le rôle que peuvent jouer, au cours de l'embryogénèse, l'inhibition sélective de la division cellulaire et les altérations chromosomiques causées par l'infection rubéoleuse.

II - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Les possibilités de diagnostic biologique de la rubéole furent tout d'abord réduites au seul isolement du virus. Mais, rapidement, de nombreuses techniques sérologiques vinrent les enrichir :

- La réaction de séroneutralisation,
- La réaction d'immunofluorescence indirecte,
- La réaction de déviation du complément,
- Et enfin, dernièrement, la réaction d'inhibition de l'hémagglutination dont nous allons voir l'intérêt.

A - RECHERCHE DIRECTE DU VIRUS : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION -

L'isolement du virus de la rubéole est une technique délicate, très longue, qui doit être réservée à des recherches spéciales.

1° - Les prélèvements :

Ils doivent être effectués dans les cinq à six jours qui précèdent ou suivent l'éruption. Les chances sont maxima lorsque débute l'exanthème. On pratiquera de préférence un prélèvement pharyngé ou, mieux encore, un écouvillonnage des fosses nasales. La méthode des gargarismes est souvent utilisée chez l'adulte.

Les résultats sont plus aléatoires avec des échantillons d'urine ou de matières fécales.

Du fait de la fragilité du virus, le prélèvement entouré de glace sera adressé le plus rapidement possible au laboratoire (71 - 114).

2° - Isolement du virus :

a) Technique indirecte :

Après centrifugation à froid, les échantillons sont inoculés dans des cultures de cellules de rein de singe cercopithèque. Après neuf à dix jours d'incubation, on inocule les cultures par un virus challenger de titre infectieux connu : Echovirus 11, Cocksackievirus A 9 ou virus Sindbis. Trois jours plus tard, on effectue la lecture d'un éventuel effet interférent.

Identification : La neutralisation du pouvoir interférent éventuel par un sérum spécifique antirubéole identifie le virus isolé comme étant celui de la rubéole.

b) Technique directe :

Actuellement, on sait que le virus cultive facilement sur cellules embryonnaires de lapin en lignée continue : cellules RK 13 (rein de lapin) et cellules SIRC (cornée de lapin).

Les souches de virus de la rubéole adaptées après plusieurs passages sur ces cellules produisent un effet cytopathogène caractéristique (7 - 51).

Mais cette technique est moins sensible et, parfois, nécessite tout de même le recours à la technique indirecte d'interférence pour affirmer la présence du virus.

B - LES TECHNIQUES SEROLOGIQUES -

1° - Recherche des anticorps neutralisants :

Les malades en phase aiguë ont dans leur sérum des anticorps neutralisants ; ceux-ci augmentent durant la convalescence pour persister toute la vie.

La réaction de séroneutralisation en culture cellulaire a été le premier procédé de diagnostic sérologique de la rubéole.

Comme dans le cas de l'isolement du virus, il existe deux méthodes de détection de ces anticorps :

- La méthode indirecte ou d'interférence,
- La méthode directe ou d'inhibition de l'effet cytopathogène sur cellules RK 13 ou SIRC.

a) Méthode indirecte ou d'interférence :

Principe : La neutralisation du virus rubéoleux par les anticorps contenus dans le sérum est appréciée par la suppression de son effet interférent révélé par un virus challenger de titre infectieux connu.

Technique : Les systèmes les plus couramment employés pour cette séroneutralisation sont :

- Les cellules rénales de singe vert ; le virus challenger étant le virus Echo 11 ou Coxsackie A 9 (107 - 59 - 87 - 1 - 6 - 80 - 99 - 106).
- Les cellules diploïdes humaines et le virus Sindbis, utilisés par A. BOUE (18).

Une dilution de virus rubéoleux contenant entre 10 et 30 doses interférentes est mise en contact avec des dilutions successives de sérum, de 1/4 à 1/256 par exemple. Le mélange est introduit sur les cellules sensibles et laissé en culture pendant huit à neuf jours. On ajoutera alors à chaque tube de culture une suspension

du virus surinfectant choisi (Echovirus 11 par exemple).

Résultats :

Aux deuxième, troisième et quatrième jours d'incubation à 37°C, on fera la lecture de l'effet cytopathogène.

Les tubes présentant un effet cytopathogène montrent que le pouvoir interfèrent du virus de la rubéole a été neutralisé par le sérum et que ce dernier contient des anticorps rubéoleux.

Cette méthode indirecte de séro-neutralisation doit être effectuée par un laboratoire très entraîné pour donner des résultats reproductibles. Elle est d'autre part longue, coûteuse et peu sensible. Les taux d'anticorps décelés sont faibles et varient du 1/4 au 1/128e (71 - 109).

b) Méthode directe ou d'inhibition d'un effet cytopathogène :

Le principe en est simple. On peut utiliser soit les cellules RK 13, soit les cellules SIRC (85 - 52 - 28 - 106). Il faut disposer d'un virus adapté, de haut titre infectieux, capable de donner un effet cytopathogène net et rapide.

On met en contact une certaine dose (10 doses infectieuses 50 %) de ce virus et les dilutions de deux en deux du sérum à tester.

Le mélange est inoculé dans les tubes de culture cellulaire. La lecture de l'inhibition de l'effet cytopathogène est faite du troisième au huitième jour et permet de mesurer le taux des anticorps neutralisants.

Si cette méthode présente l'avantage d'être plus rapide, sa technique reste délicate : la dose du virus à utiliser doit être faible et l'effet cytopathogène est souvent peu net.

D'autre part, elle semble à peine plus sensible que la méthode indirecte (71).

c) Recherche des anticorps par la réaction d'immuno-fluorescence :

La réaction d'immuno-fluorescence indirecte a été décrite par BROWN (21). Elle consiste à faire agir le sérum humain dans lequel on veut déceler des anticorps neutralisants sur des cellules infectées par le virus rubéoleux, de façon à obtenir la fixation de l'anticorps qui est révélée par un sérum antiglobuline humaine conjugué à un fluorochrome.

L'examen est fait au microscope en lumière ultra-violette. On obtient une immuno-fluorescence très nette du cytoplasme des cellules infectées sur lesquelles s'est fixé l'anticorps antirubéoleux.

Cette méthode ne semble pas présenter d'avantage bien supérieur à celles précédemment décrites (21 - 101 - 50).

2° - Recherche des anticorps fixant le complément :

La réaction de déviation du complément a vu sa mise au point longtemps retardée par les difficultés de préparation des antigènes, quelles que soient les cellules utilisées pour la culture du virus.

De nombreuses techniques ont été proposées pour la préparation de l'antigène fixant le complément (102 - 110 - 95 - 118 - 100).

Il semble qu'actuellement les meilleurs titres antigéniques soient obtenus à l'aide de cultures de cellules BHK 21 en suspension, auxquelles on fait subir une extraction alcaline (36).

Les anticorps fixant le complément ne sont pas directement superposables aux anticorps neutralisants.

Ils apparaissent un peu plus tard (jamais avant le cinquième jour de la maladie) et disparaissent plus vite, ce qui rend inutile leur recherche dans les enquêtes systématiques ayant pour but l'étude d'une immunité préexistante (71).

En résumé, les techniques jusqu'à présent disponibles pour le diagnostic biologique de la rubéole étaient réservées à quelques laboratoires très spécialisés et ne pouvaient guère trouver d'application dans la pratique quotidienne.

Nous allons voir qu'il n'en est plus ainsi depuis le développement de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination devenue maintenant classique dans de nombreux laboratoires de sérologie.

CHAPITRE II

ETUDE DE LA REACTION D'INHIBITION
DE L'HEMAGGLUTINATION APPLIQUEE
AU DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE LA
RUBEOLE

-

INTRODUCTION -

En 1941, HIRST d'une part, Mc CLELLAND et HARE d'autre part, découvraient la propriété hémagglutinante du virus de la grippe.

Par la suite, de très nombreuses études révélèrent que d'autres virus étaient doués de propriétés identiques.

Les applications pratiques de l'hémagglutination sont essentielles, puisqu'elles ont trait à la détection et au titrage des virus, et, grâce à la méthode indirecte d'inhibition immunologique spécifique de l'hémagglutination, au titrage des anticorps anti-virus.

On distingue divers groupes de virus hémagglutinants et d'hémagglutinines, car leurs propriétés et les modalités (type d'hématies, températures, pH, etc.) de l'hémagglutination et de son inhibition sont souvent très différentes d'un groupe à l'autre :

- Groupe 1 comprenant les hémagglutinines liées à la particule virale et provoquant la destruction du récepteur muco-protéique de l'hématie du fait de l'intervention d'une enzyme. Ce sont les hémagglutinines de Mixovirus et Paramyxovirus.
- Groupe 2 comprenant les hémagglutinines liées à la particule virale mais ne provoquant pas la destruction du récepteur muco-protéique de

l'hématie. Ce sont les hémagglutinines des Arbovirus, de nature lipoprotéique.

- Groupe 3 comprenant les hémagglutinines non liées à la particule virale. Ce sont les hémagglutinines des Poxvirus, de nature phospholipidique.

D'autres hémagglutinines n'ont pas encore été classées.

La découverte de l'hémagglutinine du virus de la rubéole par STEWART et PARKMAN (111) en 1966 a permis la mise au point d'une technique d'inhibition de l'hémagglutination (I.H.) pour le titrage des anticorps spécifiques anti-rubéoleux.

Cette nouvelle particularité du virus, ajoutée à ses caractéristiques morphologiques et physico-chimiques, incite aujourd'hui à le classer dans le groupe des Arbovirus (42).

Nous essaierons, dans ce travail, de préciser certains aspects pratiques de l'emploi de cette technique d'I.H. et d'en évaluer la signification biologique.

A - PREPARATION DE L'ANTIGENE HEMAGGLUTINANT (HEMAGGLUTININE) -

Nous avons utilisé d'une part l'antigène fourni par le Laboratoire R.I.T. (Genval, Belgique) et, d'autre part, l'antigène hémagglutinant lyophilisé B.D. MERIEUX.

Dans l'un et l'autre cas, cet antigène est produit sur la lignée continue B.H.K. 21, d'après la méthode décrite par STEWART et coll. (111), étudiée depuis par plusieurs autres auteurs (15 - 32 - 38 - 82 - 90 - 114).

Si toutes les souches de virus s'avèrent aptes à préparer l'antigène, la lignée continue B.H.K. 21

ne demeure pas actuellement l'unique culture cellulaire susceptible de produire l'hémagglutinine. A la suite des travaux de LIEBHABER (53) et RHIM (92), qui ont étudié récemment la croissance du virus rubéoleux sur lignée continue de rein de singe vert d'Afrique (VERO cells), RAFAJKO (89), utilisant ce système cellulaire, a obtenu, dans des conditions aussi satisfaisantes que sur lignée B.H.K. 21, la production de cet antigène.

L'antigène est traité par Tween 80-éther (114 - 83), ce qui le rend non-infectieux, en améliore la stabilité et provoque une augmentation du titre hémagglutinant que l'on peut également obtenir par une extraction alcaline (37).

B - TECHNIQUES -

200 tests d'inhibition de l'hémagglutination ont été effectués au Laboratoire, soit par la technique R.I.T., soit par la technique indiquée par B.D.MERIEUX (111). Ces deux méthodes diffèrent quelque peu dans leurs modalités (réactifs, conditions de pH et de température).

1° - Titrage de l'antigène :

Les réactifs employés sont ceux couramment utilisés pour la sérologie des Arbovirus. On trouve la formule et le mode de préparation de ces réactifs dans "Techniques de laboratoire en virologie humaine", de P. LEPINE (chapitre de Cl. Hannoun sur les arbovirus) et dans "Diagnostic des maladies à virus" de R. SOHIER (chapitre sur l'hémagglutination).

a) Technique R.I.T. :

1 - Réactifs :

- Solution Dextrose-Gélatine-Véronal (D.G.V.) dont le pH se situe entre 7,2 et 7,4 ; utilisée comme diluant pour l'antigène, le sérum et les globules rouges.

- Solution d'Alsever, pH 6,1, pour la conservation des hématies à + 4°C.

2 - Globules rouges :

Nous avons utilisé des globules rouges de pigeons adultes. Le sang recueilli dans un volume égal de solution Alsever peut être conservé à + 4°C pendant environ une semaine.

Au moment de l'emploi, ce mélange sang/Alsever est dilué dans 10 volumes de solution D.G.V. puis centrifugé 10 minutes à 2 000 t/min. On répète deux fois la même opération en partant du culot d'hématies. Après la troisième centrifugation, on prépare une suspension à 50 % d'hématies dans le D.G.V. qui servira de suspension-mère pour les dilutions ultérieures.

3 - Le titrage :

Il est effectué sur des plaques en matière plastique (LINBRO RB 96).

On répartit 0,2 ml de D.G.V. dans toute la rangée de cupules. Puis on effectue des dilutions de deux en deux de l'antigène en ajoutant 0,2 ml de cet antigène dans les deux premières cupules et en continuant les dilutions dans les suivantes.

Puis on ajoute dans chaque cupule 0,2 ml d'une suspension d'hématies de pigeon à 0,25 % dans le D.G.V., préparée à partir de la suspension-mère à 50 %.

La plaque est laissée pendant une heure à + 4°C avant de procéder à la lecture.

Le titre hémagglutinant de l'antigène est la plus forte dilution donnant une hémagglutination même faible.

Pour la réaction d'I.H., la dilution de l'antigène se fera en fonction de son titre, de manière à obtenir une dilution contenant quatre unités hémagglutinantes.

b) Technique B.D. MERIEUX (d'après STEWART 111):

1 - Réactifs :

- Tampon boraté à pH 9,0, .
- Tampon B.A.B.S. : solution d'albumine bovine à 0,4 % dans le tampon boraté à pH 9,0,
- Tampon acide de pH 6,2 pour les suspensions globulaires,
- Solution D.G.V.,
- Solution d'Alsever.

2 - Globules rouges :

Nous avons utilisé des hématies de poussins de moins de 24 heures. Le sang de chaque poussin, prélevé par ponction cardiaque, est recueilli dans 3 ml de solution d'Alsever. On obtient en moyenne 0,5 à 1,5 ml de sang par poussin. Le lendemain, les hématies sont lavées trois fois dans la solution D.G.V. et on prépare une suspension à 10 % de globules rouges dans cette même solution qui pourra être conservée à + 4°C pendant plusieurs jours. C'est à partir de cette suspension à 10 % d'hématies et dans le tampon acide de pH 6,2 que seront préparées les suspensions utilisées dans la réaction d'I.H.

3 - Le titre de l'antigène hémagglutinant B.D. MERIEUX est de 1/64e, mais il est recommandé de faire un titrage de l'antigène contemporain de la réaction d'I.H. dans les conditions opératoires de cette méthode (tampon B.A.B.S., suspension hématies 0,50 % dans tampon pH 6,2). Le titre devra alors être tel que deux à huit unités hémagglutinantes aient été utilisées dans la réaction d'I.H. pour que celle-ci soit considérée comme valable.

2° - Traitement des sérums :

Les sérums qui peuvent contenir soit des iso-agglutinines spontanées, soit des inhibiteurs non spécifiques de l'héماغglutination, doivent subir un traitement particulier :

- Une adsorption aux mêmes hématies que celles employées dans le test I.H. pour éliminer les iso-agglutinines.
- Une adsorption au kaolin pour éliminer les inhibiteurs d'agglutination aspécifiques, selon la technique employée dans la sérologie des Arbovirus, par CLARKE et CASALS.

a) Technique R.I.T. :

On dilue 0,2 ml du sérum à doser avec 0,2 ml de tampon D.G.V. On ajoute 0,05 ml de la suspension-mère d'hématies à 50 % dans le D.G.V.

On adsorbe à 4°C pendant une heure.

Après centrifugation (20 minutes à 2 000 t/min.), on mélange le surnageant avec 1,2 ml d'une suspension à 25 % de kaolin lavé à l'acide (distribué par les Laboratoires BIOTROL - Paris). Cette adsorption se fait à la température ordinaire pendant une demi-heure. Après quoi, le kaolin est séparé du sérum par centrifugation (20 minutes à 2 000 t/min.).

La dilution du sérum après ces dilutions est de 1/8e.

b) Technique B.D. MERIEUX :

On effectue tout d'abord une dilution au 1/5 du sérum dans le tampon B.A.B.S. (0,2 ml de sérum dans 0,8 ml de B.A.B.S.).

Puis on adsorbe par le kaolin, pendant 20 minutes à la température du laboratoire, 1 ml de sérum

au 1/5 par 1 ml de la suspension de kaolin à 25 %.

Après centrifugation (30 minutes à + 4°C à 2 000 t/min.), sans remettre le kaolin en suspension, on ajoute 0,1 ml d'une suspension à 50 % d'hématies de poussins dans l'Alsever ; on laisse à + 4°C pendant 20 minutes, en agitant à plusieurs reprises.

Après une deuxième centrifugation, pendant 10 minutes à + 4°C et 2 000 t/min., on décante le surnageant qui représente la dilution au 1/10 du sérum.

3° - Réaction d'inhibition de l'hémagglutination :

Nous l'effectuons dans les plaques à cupules en matière plastique LINBRO RB 96. Nous n'avons utilisé que la macro méthode.

Les différentes manipulations nécessaires à l'exécution de la réaction selon chaque méthode se trouvent rassemblées dans les tableaux I (R.I.T.) et II (B.D. MERIEUX).

Chaque série de titrage doit s'accompagner des contrôles habituels :

- Témoin globules rouges,
- Témoin antigène,
- Témoin sérum positif : pour un sérum de contrôle positif titrant 1/1 000, l'hémagglutination ne devra débuter qu'au-delà du 1/1 000, l'inhibition devant être notée jusqu'à cette dilution,
- Témoin sérum négatif : l'hémagglutination se produit dès la première dilution sérique.

Tableau II

- CONDUITE DE LA REACTION : Technique B.D. MERIEUX

Numéro des cupules	Témoïn sérum	1	2	3	4	5	6	7
Sérum au 1/10 Tampon B.A.B.S. pH = 9,0	0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2 0,2							
Taux de dilution		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640
A J O U T E R :								
Antigène 4 unités hémagglutinantes	0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
LAISSER A + 4°C pendant deux heures, PUIS AJOUTER :								
Hénaties de poussins suspension à 0,50 % pH = 6,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
LAISSER 1 h 30 A + 4°C (pH final = 6,8), PUIS :								
Deux heures à la température du laboratoire PREMIERE LECTURE effectuée après ce délai.								
Le lendemain : deuxième LECTURE (Résultats plus nets.								

C - DISCUSSION -

1° - Etude comparée des deux techniques :

Nous avons effectué le test d'I.H. sur 50 mêmes sérums par l'une et l'autre technique (tableau III).

Deux constatations se dégagent de cette étude :
8 sérums sur 50 ont été trouvés positifs (donc 5 en particulier à des taux nettement supérieurs au 1/10) par la technique B.D. MERIEUX alors que nous n'avions pu déceler la présence d'anticorps dans ces sérums par la technique R.I.T.

D'autre part, les résultats obtenus, non seulement pour cette étude comparative, mais aussi pour les autres tests effectués par la suite en utilisant l'antigène et la technique B.D. MERIEUX, semblent plus homogènes, plus régulièrement reproductibles. Cette dernière constatation est particulièrement importante pour éviter les erreurs diagnostiques, lorsqu'il existe une suspicion de rubéole chez un sujet et que le test d'I.H. est pratiqué sur deux prélèvements précoce et tardif (à trois ou quatre semaines d'intervalle) pour mettre en évidence une éventuelle ascension du taux des anticorps.

2° - Rôle du pH :

La validité du test de STEWART implique, comme l'ont souligné SEVER (104) et CANIVET (22), que le pH auquel s'effectue la réaction d'I.H. soit compris entre 7,0 et 7,4.

L'utilisation d'un pH plus bas donne un certain pourcentage de faux résultats positifs.

3° - Le traitement des sérums :

La quantité de kaolin nécessaire à l'adsorption des inhibiteurs non spécifiques doit être au moins égale à 0,6 ml de la suspension à 25 % pour 0,2 ml de sérum (22) pour éviter de fausses réactions positives.

Tableau III

COMPARAISON DES DEUX METHODES D'I.H.

(Etude comparée de 50 sérums)

Le taux d'anticorps est exprimé par l'inverse
des dilutions sériques

NOMS	Taux d'anticorps inhibiteurs Technique R.I.T.	Taux d'anticorps inhibiteurs Technique BD-Mérieux
Bes...	8	10
Ben...	Négatif	Négatif
Fer...	"	"
Loi...	"	"
Ait...	"	"
Dup...	"	40
Feb...	"	Négatif
Bor...	32	160
All...	8	40
Par...	Négatif	40
Par...	64	160
Gir...	Négatif	40
Flo...	128	40
Dou...	32	80
Vin...	256	40
Gil...	Négatif	80
Pla...	64	80
Des...	8	40
Rou...	Négatif	160
Lop...	32	40
Ber...	64	80
Car...	Négatif	Négatif

Tableau III
(suite)

Roc...	64	40
Cha...	Négatif	Négatif
Tai...	128	20
Lob...	32	40
Bor...	1024	320
Alp...	Négatif	Négatif
Vig...	"	"
Huo...	"	"
Lar...	256	40
Bar...	512	160
Fay...	256	80
Pou...	Négatif	Négatif
Gra...	1024	160
Ber...	256	160
Mey...	128	160
Let...	Négatif	Négatif
Vac...	128	80
Pro...	16	40
Klu...	64	20
Pad...	512	640
Com...	32	160
Rig...	64	80
Ben...	64	80
Pro...	Négatif	10
Mez...	8	20
Ber...	Négatif	10
Deb...	"	10
Sir...	"	Négatif

A. BOUE (15), pour apprécier l'efficacité du traitement au kaolin, introduit un deuxième antigène capable de produire une hémagglutination dans les mêmes conditions de pH et de température que l'hémagglutinine de la rubéole. Cet auteur emploie le virus Sindbis qui a l'avantage de pouvoir être utilisé selon le même protocole que le virus de la rubéole et dont les anticorps ne se rencontrent qu'exceptionnellement dans la population de nos pays.

4° - Le choix des hématies :

Les globules rouges qui conviennent à la réaction d'I.H. sont, soit les globules rouges de poussin de moins de 24 heures, soit ceux de pigeons adultes. Les hématies d'autres animaux sont moins sensibles (hématies d'oies en particulier) ou ne sont pas agglutinables.

Nous avons utilisé des hématies de pigeons pour la technique R.I.T. Une suspension à 0,50 % (au lieu de 0,25 %) d'hématies de poussins a été utilisée pour la réaction d'I.H. selon la technique B.D. MERIEUX. Elle présente l'avantage de rendre plus facile la lecture des résultats mais pourrait diminuer la sensibilité du test (15).

Enfin, il est essentiel que le taux de dilution de la suspension soit soigneusement vérifié pour que la réaction soit sensible et reproductible.

Nous verrons dans le troisième chapitre de notre travail l'intérêt que présente la technique d'I.H., en particulier au cours d'une étude épidémiologique effectuée dans une population féminine adulte de la région du Centre.

CHAPITRE III

INTERET DU DEPISTAGE DES
ANTICORPS ANTI-RUBEOLEUX ET
PROPHYLAXIE DE LA RUBEOLE

Les notions récemment acquises sur l'épidémiologie de la rubéole sont particulièrement importantes. Le virus peut déjà être isolé dans la gorge huit jours avant l'éruption et il est régulièrement retrouvé pendant les six jours qui précèdent l'éruption.

Le titre du virus présent dans la gorge augmente progressivement pour atteindre son maximum dans les jours qui entourent la période de l'éruption.

Les isollements sont encore positifs pendant la semaine qui suit l'éruption, ensuite le virus n'est que rarement isolé.

Cette présence du virus dans la gorge bien avant l'apparition de l'exanthème montre les difficultés que pose une prophylaxie efficace dont la mise en oeuvre est déterminée par une éruption survenant chez un enfant qui est déjà contagieux depuis plusieurs jours (11).

A - APPLICATIONS PRATIQUES -

1° - Etude de l'état immunitaire d'une population féminine adulte :

Particulièrement angoissant est le problème d'une rubéole éventuelle chez la femme enceinte. La réaction d'inhibition de l'héماغglutination est alors d'une grande utilité pour affirmer l'immunité due à une rubéole ancienne, bien souvent oubliée ou méconnue.

Nous savons en effet, grâce à des inoculations expérimentales et aux premiers essais de vaccination, que les sujets porteurs d'anticorps sont protégés contre une nouvelle atteinte du virus.

Les études effectuées récemment dans plusieurs villes de France : PARIS (48 - 22 - 14), LILLE (114), LYON (41 - 71 - 15) ainsi qu'en Belgique (44 - 81 - 112) et en Suisse (65), études portant sur plusieurs milliers de jeunes femmes, ont montré le pourcentage élevé (80 à 90 %) de sujets protégés contre l'infection rubéoleuse.

Une investigation encore plus vaste, faite sous les auspices de la WORLD HEALTH ORGANISATION (123), dans neuf laboratoires de pays différents, a également révélé que 80 à 87 % des femmes âgées de 17 à 22 ans possédaient des anticorps anti-rubéoleux.

Il nous a paru intéressant d'étendre cette étude à une population féminine adulte de la Région du Centre. La majorité des sérums testés de façon systématique provenait de jeunes femmes venues en consultation prénatale. Chez 20 % d'entre elles environ, on craignait un contage rubéoleux : deux prélèvements sanguins à trois semaines d'intervalle ont alors été réalisés pour suivre l'évolution du taux des anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination. Le pourcentage élevé de femmes immunes a été retrouvé dans notre étude :

- Dans un groupe de 146 femmes enceintes âgées de 16 à 35 ans, nous avons trouvé des anticorps chez 82 % d'entre elles ; 18 % des femmes examinées étaient donc susceptibles de contracter la rubéole au cours de leur grossesse.
- L'étude de la distribution du taux des anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination présents dans 120 des 146 sérums testés (tableau IV) montre que les taux les plus couramment rencontrés (63 % des cas) sont répartis du 1/40 au 1/160.
- Nous avons tenté de déterminer si le risque d'infection rubéoleuse était différent selon l'âge des femmes. La population examinée a été répartie en quatre tranches d'âge (tableau V) : de 16 à 20 ans, de 21 à 25 ans, de 26 à 30 ans, de 31 à 35 ans.

Pourcentages
des sujets

Tableau IV

- DISTRIBUTION DU TAUX DES ANTICORPS INHIBITEURS DE L'HEMAGGLUTINATION

CHEZ 120 SUJETS (femmes enceintes)

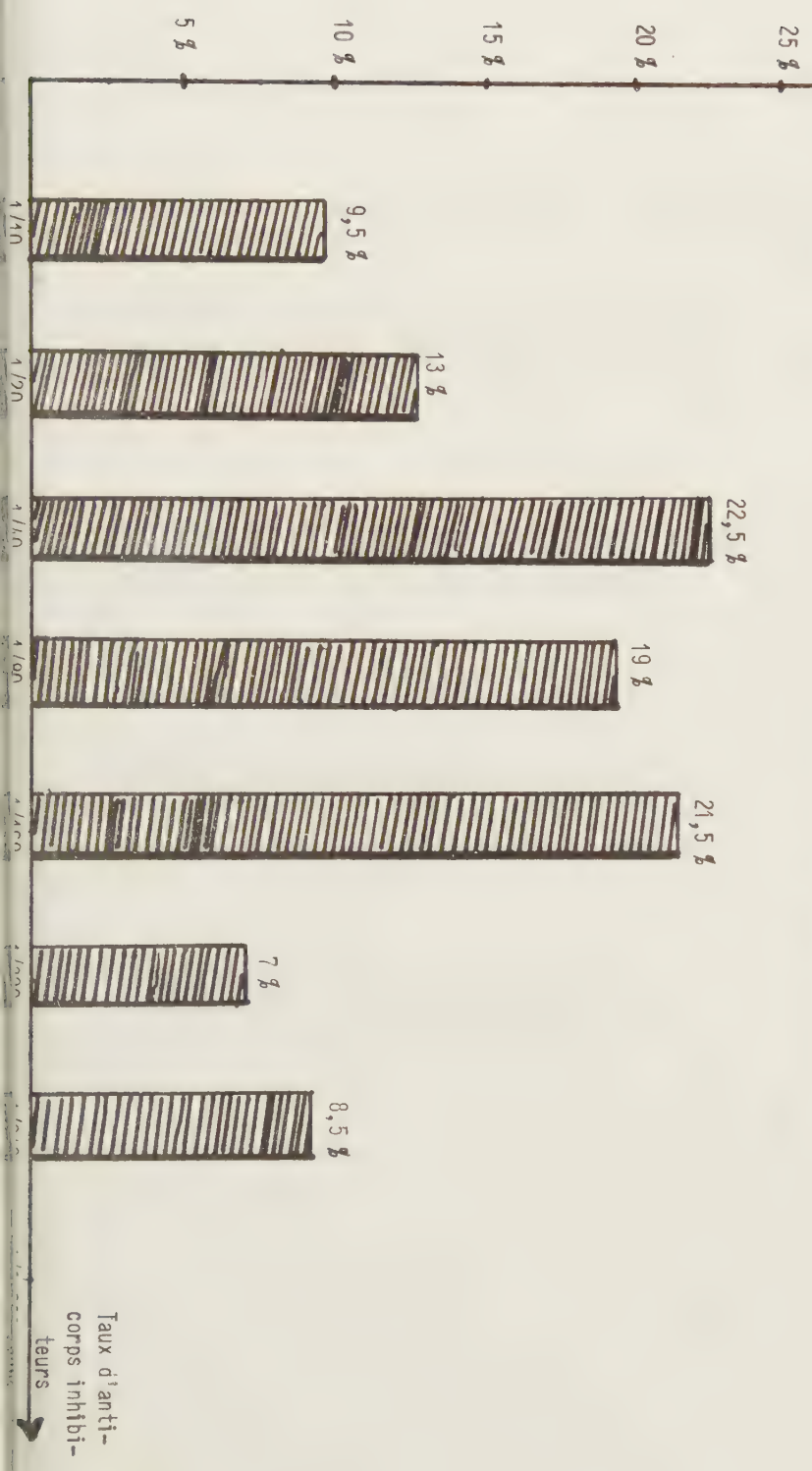
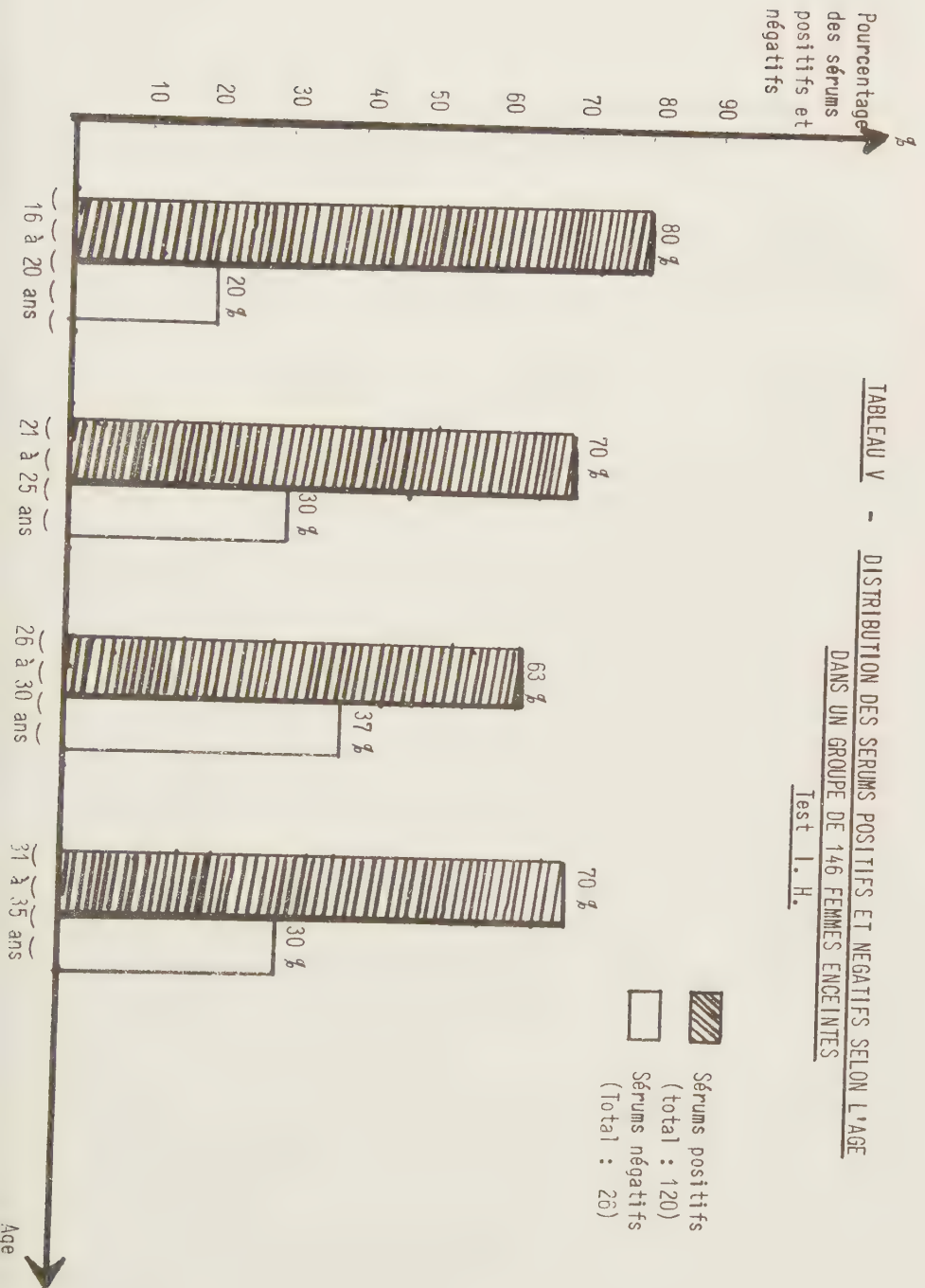


TABLEAU V - DISTRIBUTION DES SÉRUMS POSITIFS ET NÉGATIFS SELON L'ÂGE
DANS UN GROUPE DE 146 FEMMES ENCEINTEES
Test I. H.



Nous avons constaté que de 16 à 20 ans, le pourcentage de femmes immunes (80 %) et de celles dépourvues d'anticorps (20 %) ne différait pratiquement pas du pourcentage général.

Le pourcentage des femmes non immunes est apparu plus élevé dans les autres tranches d'âges, en particulier entre 26 et 30 ans.

A la lumière des premières études faites en France, on peut donc conclure que huit à neuf femmes en âge de concevoir, sur dix, sont protégées contre la rubéole.

2° - Intérêt diagnostique de la réaction d'I.H. :

a) Parmi les 146 femmes enceintes examinées, 30 avaient été en contact avec une rubéole supposée. 26 possédaient des anticorps témoignant d'une immunité ancienne. Chez 4 d'entre elles, il n'existait pas d'anticorps ; le deuxième prélèvement sanguin effectué trois semaines plus tard a également montré l'absence d'anticorps, ce qui nous a permis d'écarter la possibilité d'une rubéole chez ces femmes enceintes.

b) Chez l'enfant présentant une fièvre éruptive, la réaction d'I.H. permettra d'infirmer ou de confirmer un diagnostic de rubéole souvent difficile à établir avec les seules données cliniques.

Nous n'avons pratiqué le test d'I.H. que sur 19 sérums d'enfants âgés de 1 à 5 ans qui présentaient des symptômes évoquant une rubéole : dans 17 cas, nous avons pu éliminer ce diagnostic, les deux prélèvements étant négatifs. Les deux sérums positifs étaient les témoins d'une immunité ancienne.

Une étude systématique de l'immunité rubéoleuse effectuée par TONNEL, DUBOIS et SAMAILLE (114) dans une population d'enfants du Nord de la France nous montre que :

- De 0 à 6 mois, sur un total de 116 sérums, 34,5 % de sérodiagnostics sont positifs.

- De 6 mois à 1 an, le taux s'abaisse à 23 %, traduisant très vraisemblablement la disparition progressive des anticorps d'origine maternelle.
- Le pourcentage de sérums présentant des anticorps inhibant l'héماغglutination augmente ensuite lentement dans différentes tranches d'âge : de 1 à 2 ans, il est de 31 % ; entre 2 et 5 ans, de 38 % et entre 5 et 10 ans, de 46 %.
- A partir de 10 ans, la courbe s'infléchit brusquement pour dépasser 80 % entre 15 et 20 ans.

B - INTERPRETATION DES RESULTATS -

1° - La rubéole de l'enfant ou de l'adulte :

La réaction d'inhibition de l'héماغglutination nécessite, pour établir un diagnostic d'infection récente, de comparer les résultats de deux échantillons sériques (10 ml de sang sans anticoagulant sont nécessaires pour un test d'I.H.). Le premier dit "sérum précoce" doit être effectué le jour de l'éruption ou dans les 48 heures qui suivent car les anticorps apparaissent généralement dans les trois jours qui suivent l'éruption (le taux de ces anticorps va augmenter progressivement dans le premier mois pour se stabiliser pendant environ un an et persister toute la vie à un taux moins élevé).

Le "sérum tardif" prélevé trois semaines plus tard fera le preuve ou au contraire infirmera une atteinte récente par le virus de la rubéole. Schématiquement, un titre bas (du 1/20 au 1/160) ne fait que traduire une immunité ancienne. En cas d'infection rubéoleuse récente, le titre des anticorps s'élève jusqu'au 1/640, 1/1 280, contrastant avec l'absence complète des anticorps ou leur taux très bas dans le premier échantillon sérique.

2° - La rubéole chez la femme enceinte :

Il est important, chez la femme enceinte de

déterminer la date du contagé. Nous savons que le virus de la rubéole est déjà présent dans la gorge durant la semaine qui précède l'éruption. Souvent il faudra envisager la plus mauvaise éventualité, c'est-à-dire un contagé ayant pu se produire dès le début de l'élimination virale par l'enfant qui est à l'origine du contagé, soit une semaine avant l'éruption révélatrice.

La conduite à tenir est donc de prélever un échantillon de sang de la mère dès qu'une éruption fait redouter une rubéole chez un enfant :

a) Si la réaction d'I.H. montre la présence d'anticorps inhibant l'hémagglutination, ceux-ci sont le témoignage d'une immunité ancienne. En effet, lorsque l'infection se développe chez un sujet réceptif, ces anticorps n'apparaissent que dans les deux à trois jours qui suivent l'éruption, soit plus de seize jours après le contagé. Il sera toutefois prudent de pratiquer un autre test d'I.H. trois semaines plus tard pour vérifier l'absence d'augmentation du taux des anticorps.

b) Si la réaction est négative, la femme peut contracter la rubéole et un deuxième prélèvement de sang trois semaines après le premier est absolument indispensable. Si cette absence d'anticorps est à nouveau retrouvée, on peut conclure à l'absence d'infection rubéoleuse. Mais si des anticorps apparaissent dans le sérum tardif, ils témoignent d'une atteinte de l'organisme maternel par le virus de la rubéole.

c) Si la réaction d'I.H. est effectuée très tardivement après le contagé, il sera difficile d'apprécier l'évolution du taux des anticorps et aucune conclusion ne pourra être formulée.

3° - La rubéole congénitale :

En cas de rubéole congénitale, les taux d'anticorps retrouvés sont très élevés, montant parfois jusqu'à des dilutions du 1/10 000. Ces enfants naissent, en effet, porteurs d'anticorps qui sont, d'une part des gamma-G immunoglobulines d'origine maternelle, d'autre part des gamma-M immunoglobulines d'origine foetale

dont la synthèse commence dès la vie intra-utérine. On sait que les Gamma-M immunoglobulines ne peuvent traverser la paroi des vaisseaux ; de ce fait, leur action ne peut s'effectuer que dans le torrent circulatoire et non dans les tissus de l'embryon chroniquement infectés.

Le virus tendra à disparaître des tissus (gorge par exemple) seulement vers le sixième mois, quand le foetus, devenu immunologiquement mature, fabriquera ses propres gamma-G immunoglobulines capables de passer à travers les parois vasculaires.

Ces faits laisseraient donc supposer une différence de nature entre les gamma-G immunoglobulines d'origine maternelle et d'origine foetale.

C - TRAITEMENT PREVENTIF -

En attendant d'avoir à notre disposition une vaccination efficace et sûre, il faut d'abord envisager les seules méthodes prophylactiques actuellement à notre disposition.

De très nombreux travaux ont tenté d'évaluer le degré de protection apporté par l'administration de gamma-globulines (4 - 61). Le titrage des anticorps anti-rubéole effectué dans des préparations commerciales d'immunoglobulines par NETTER (69) montre que le titre d'anticorps inhibant l'hémagglutination est souvent supérieur à 1/640 dans ces préparations.

Mais les résultats de ces titrages ne permettent aucune conclusion sur les modalités d'emploi de ces immunoglobulines et leur efficacité dans la prévention de la rubéole.

Certains éléments que nous avons exposés au cours des chapitres précédents permettent de comprendre les difficultés qu'il y a pour établir une prophylaxie efficace.

Nous avons vu que le contagé pouvait se produire plusieurs jours avant l'éruption révélatrice de la maladie chez le sujet contaminé. Nous avons vu également la fréquence des formes inapparentes qui, en période épidémique, multiplient les sources de contagé.

Ceci fait que l'injection de gamma-globulines est souvent trop tardive et que s'est déjà développée la virémie qui transportera le virus jusqu'à l'embryon. (La virémie commence une semaine avant l'éruption).

Le seul résultat de cette injection de gamma-globulines sera souvent la suppression de l'éruption, élément précieux de diagnostic ; mais l'infection rubéoleuse se sera malgré tout développée, même sous forme inapparente.

Les études expérimentales (11) ont montré que l'injection de gamma-globulines avant une inoculation expérimentale du virus pouvait empêcher l'infection, mais que cette injection était souvent sans action sur le développement de la virémie, même si elle est pratiquée peu de temps après l'inoculation du virus.

Cependant, il semble qu'injectées précocement et à doses élevées (20 à 25 ml en deux ou trois injections à 24 heures d'intervalle) les gamma-globulines aient pu, d'après certaines enquêtes (4) diminuer l'incidence des malformations.

C'est dans cet espoir et faute de mieux qu'est encore recommandée l'utilisation des gamma-globulines.

La seule solution prophylactique efficace ne pourra être apportée que par la vaccination.

D - LA VACCINATION -

Les premières recherches ont montré les difficultés qu'il y avait à obtenir des suspensions virales d'un titre élevé (sur cellules primaires de singe, de lapin, les titres obtenus ne dépassent pas $10^{5,5}$ unités virales par ml ; même sur des souches de cellules

diploïdes humaines, les titres obtenus n'atteignent que 10^7 par ml.), condition indispensable à la préparation d'un vaccin inactivé (16).

C'est donc vers l'élaboration de souches de virus atténué que se sont tournés plusieurs groupes de chercheurs et, en 1966, PARKMAN et MEYER (78 - 66) annonçaient le développement d'une souche de virus atténué, la souche H.P.V. 77 (High Passage Virus 77). Ce virus a subi 77 passages sur des cultures de cellules rénales de singe cercopithèque.

Tous les contrôles effectués in vitro et in vivo suggèrent le caractère atténué de cette souche ; les expériences faites en particulier sur le singe montrent qu'elle a perdu son caractère contagieux (78).

Les essais cliniques réalisés aux Etats-Unis (66) et en France (10 - 16) ont permis d'apprécier la valeur de ce vaccin :

a) Aucune réaction clinique n'a été observée après administration de 0,5 ml de vaccin par voie sous-cutanée.

b) 95 % des enfants réceptifs à la rubéole ont acquis des anticorps à la suite de la vaccination. Alors qu'après l'infection naturelle ces anticorps augmentent très rapidement, après la vaccination la montée des anticorps est progressive. Cette ascension se poursuit pendant environ six mois pour atteindre un taux qui reste stationnaire pendant les deux premières années, laissant espérer une immunité de longue durée (27).

c) Chez les sujets vaccinés, le virus peut être isolé au niveau du rhinopharynx entre le dixième et le vingtième jour après l'injection. La présence du virus est brève -deux à quatre jours- son taux est très faible, et le virus éliminé a conservé les caractères d'un virus atténué.

d) Au cours de certains essais cliniques, un nombre d'enfants réceptifs à la rubéole a vécu pendant plusieurs semaines au contact d'enfants vaccinés -

jamais une infection même inapparente n'a été décelée chez ces enfants, témoignant ainsi de l'absence de contagiosité.

e) Quelques études expérimentales sur les guenons gravides (16) (injection par voie intra-veineuse avec la souche HPV 77) ont montré que le virus atténué n'était pas retrouvé au niveau de l'embryon et du placenta. Des vaccinations effectuées chez de jeunes femmes réceptives ayant subi ultérieurement un avortement thérapeutique ont montré que le virus atténué n'était jamais retrouvé dans les tissus de l'embryon (27).

Mais ces études sont encore insuffisantes pour envisager l'injection d'un virus rubéoleux, même très atténué à une femme susceptible d'être enceinte. D'aucuns proposent de vacciner les jeunes mères huit jours après un accouchement, date à laquelle on a une garantie absolue d'absence de grossesse. Des essais sont en cours pour mieux préciser les modalités de la vaccination. Elle pourrait être systématique chez les filles vers l'âge de 13 ans.

La généralisation du sérodiagnostic par la réaction d'I.H. à l'occasion d'examens systématiques (examens prénuptial et prénatal) permettrait de connaître les femmes réceptives chez lesquelles la vaccination serait indiquée.

CONCLUSIONS

Après la découverte du virus de la rubéole, en 1962, par PARKMAN d'une part (76) et WELLER (121) d'autre part, une étape très importante a été franchie en 1966 lors de la mise en évidence de l'hémagglutinine du virus rubéoleux par STEWART et PARKMAN (111).

Le corollaire fut la mise au point d'une réaction d'inhibition de l'hémagglutination (I.H.) appliquée à ce virus qui s'est montrée depuis excessivement précieuse tant pour le diagnostic de la rubéole que pour les enquêtes épidémiologiques.

Nous avons nous-mêmes pratiqué cette réaction en l'appliquant tout spécialement à une population féminine du Centre de la France.

1 - L'étude comparative de deux techniques d'I.H., l'une utilisant l'antigène R.I.T., l'autre un antigène B.D. MERIEUX, nous a permis de mettre en évidence des qualités de sensibilité et de reproductibilité plus grandes en faveur de cette dernière.

2 - Dans un groupe de 146 femmes enceintes âgées de 16 à 35 ans, nous avons pu déceler les anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination chez 82 % d'entre elles, à des taux étagés entre 1/10 et 1/640. Ce pourcentage corrobore les études similaires effectuées en France et dans le monde.

3 - Dans un groupe de 19 enfants âgés de 1 à 5 ans, 17 ne possédaient pas d'anticorps, les deux autres présentaient une immunité résiduelle, ce qui est en accord avec les résultats des enquêtes publiées.

4 - L'interprétation des résultats de la technique d'I.H. doit tenir compte de trois données essentielles :

- a) L'incubation de la rubéole est de 14 jours.
- b) D'autre part, les anticorps n'apparaissent que dans les deux à trois jours qui suivent l'éruption.
- c) Enfin le sujet atteint de rubéole est contagieux pour son entourage, par élimination du virus, huit jours avant l'apparition de l'éruption révélatrice.

En conséquence, si nous prenons pour exemple le cas d'une femme enceinte ayant été en contact avec un enfant rubéoleux, il est indispensable d'effectuer une recherche d'anticorps chez cette femme dès que la rubéole se manifeste cliniquement chez l'enfant. Si, à cette date, la femme enceinte possède des anticorps, ceux-ci ne peuvent être que le témoignage d'une immunité ancienne, ce qui permettra de rassurer la future mère.

5 - Bien qu'il puisse paraître illusoire d'administrer à une femme enceinte des gamma-globulines après l'éruption, soit huit jours après que le virus ait atteint le fœtus, ce qui est le cas d'une rubéole maternelle cliniquement patente ou encore d'une femme enceinte vivant en contact étroit avec un enfant qui développe une rubéole, l'injection immédiate de doses massives de gamma-globulines peut cependant protéger et la mère et le fœtus en cas d'un contage unique avec un enfant qui développe une rubéole. Dans le doute, le geste thérapeutique devra être fait, son importance pour la femme enceinte sur le plan psychologique étant indiscutable.

6 - Les craintes de rubéole sont souvent mal fondées tant sont fréquentes les éruptions rubéoliformes non spécifiques ; il n'en demeure pas moins que le risque tératogène chez une femme enceinte atteinte de rubéole pendant les trois premiers mois de sa grossesse

demeure une menace potentielle lourde de conséquences. C'est pourquoi les progrès tout récents dans le domaine de la mise au point de vaccins vivants atténués, en particulier dès 1966 par PARKMAN (78) doivent contribuer à mettre bientôt à notre disposition une arme prophylactique d'une haute efficacité permettant, par son emploi systématique chez les filles encore réceptives au virus rubéoleux vers l'âge de 13 ans, d'écarter définitivement le drame que peut constituer une rubéole chez la femme enceinte.

Vu le 10 septembre 1968

Le Doyen

G. MEYNIEL

Vu le 9 septembre 1968

Le Président de Thèse

R. VAURS

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALFORD C.A. Jr., NEVA F.A., WELLER T.H. -
Virologic and serologic studies on rubella products of conception after maternal rubella.
New Engl. J. Med., 1964, 271, 1275-1281.
- 2 - ANDERSON S.G. -
Experimental rubella in human volunteers.
J. Immunol., 1949, 62, 29.
- 3 - AVERY G.B., MONIF G.G.R., SEVER J.L.,
LEIKIN S.L. -
Rubella syndrome after inapparent maternal illness.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 444-446.
- 4 - BADILLET M. et HERZOG F. -
Gamma-globulines et rubéole.
Pres. Med., 1967, 75, 16, 799-802.
- 5 - BANATVALA J. E., HORSTMANN D.M., PAYNE M.C. et Coll. :
Rubella syndrome in newborn infants. Clinical and virologic observations.
New Engl. J. Med., 1965, 273, 474-478.

- 6 - BELLANTI J.A., ARTENSTEIN M.S., OLSON L.C. et Coll. -
Congenital rubella. Clinicopathologic, virologic and immunologic studies.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 464-472.
- 7 - BEALE A.J. et CHRISTOFINIS G. -
Symposium international sur la standardisation des vaccins contre la rougeole et la sérologie de la rubéole.
Lyon, 1964, p. 103.
- 8 - BELCOURT R.J.P., WONG F.C., WALCROFT M.J. -
Growth of rubella virus in rabbit foetal tissues and cell cultures.
Canad. J. Publ. Health, 1965, 56, 6, 253-4.
- 9 - BEST J.M., BANATVALA J.E., ALMEIDA J.D., WATERSON A.P. -
Morphological characteristics of rubella virus.
Lancet, 1967, 2, 7509, 237-239.
- 10 - BOUE A. -
Vaccination contre la rubéole.
Pr. Med. Avril 1967, 75, 19, 950.
- 11 - BOUE A. -
La rubéole congénitale. I-Biologie, pathogénie, prophylaxie.
Arch. fr. Pédiatr., 1967, 24, 3, 333-350.
- 12 - BOUE A. -
Les viroses prénatales. La rubéole congénitale.
Rev. Prat., 1966, 16, 17, 2311-2316.
- 13 - BOUE A. -
Action du virus de la rubéole sur les cellules embryonnaires "in vitro".
Rev. fr. Etud. Clin. Biol., 1966, 11, 569-577.
- 14 - BOUE A. -
Sérodagnostic de la rubéole.
Bull. Acad. Nat. Med., 1967, 151, 266-270.

- 15 - BOUE A., NICOLAS A., LANG R. -
La réaction d'inhibition de l'hémagglutination
pour la sérologie de la rubéole.
Ann. Inst. Pasteur, 1968, 114, 317-330.
- 16 - BOUE A. et CELERS J. -
Vaccination contre la rubéole. Essais cliniques
avec la souche de virus atténué HPV 77.
Pr. Med. 1968, 76, 7, 299-302.
- 17 - BOUE J.G., BOUE A. et coll. -
Altérations chromosomiques induites par le
virus de la rubéole et par le virus de la rou-
geole dans les cellules diploïdes humaines cul-
tivée in vitro.
Path. Biol. 1967, 15, 997-1007.
- 18 - BOUE A., DESHAYES E. -
Technique indirecte de séroneutralisation du
virus de la rubéole sur cellules diploïdes humai-
nes.
Path. Biol., 1967, 15, n° 5-6, 324-328.
- 19 - BOUE A., PLOTKIN S.A. -
Etablissement de souches de cellules embryon-
naires diploïdes humaines chroniquement infectées
par le virus de la rubéole.
C.R. Acad. Sc., 1964, 259, 255-57.
- 20 - BOUE A., PLOTKIN S.A., BOUE Mme J.G. -
Action inhibitrice du virus de la rubéole sur la
multiplication des différentes cellules embryon-
naires cultivées in vitro.
C.R. Acad. Sc. Fr., 1964, 259, 2, 489-491.
- 21 - BROWN G.C., MAASSAB H.F., VERONELLI
J.A. et coll. -
Rubella antibodies in human serum : detection
by the indirect fluorescent antibody technique.
Science, 1964, 145, 943-945.

- 22 - CANIVET M., PERIES J., THOMAS M.,
GUILLEMAIN B. -
La technique d'inhibition de l'hémagglutination
appliquée au virus de la rubéole.
Presse Med., 1968, 76, 21, 993-994.
- 23 - COOPER L.Z., GREEN R.H., KRUGMAN S. -
Neonatal thrombocytopenic purpura and other
manifestations of rubella contracted in utero.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 416.
- 24 - COTLIER E., FOX J., BOHIGIAN G. and coll. -
Pathogenic effects of rubella virus on embryos
ans newborn rats.
Nature, 1968, 217, 5123, 38-40.
- 25 - CUSUMANO C.L. -
Density gradient centrifugation of rubella virus.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1966, 122, 2,
461-464.
- 26 - CUSUMANO C.L., SCHIFF G.M., SEVER J.L.
et HUEBNER R.J. -
Rubella virus : nucleic acid studies using
5-iodo-2'-deoxyuridine.
J. Pediatr., 1964, 65, 138-140.
- 27 - DEBRE R. et BOUE A. -
Prévention de la rubéole.
Bull. Acad. Nat. Med., 1968, 152, 21-22,
341-346.
- 28 - DUDGEON J.A., BUTLER N.R. et PLOTKIN S.A. -
Further serological studies on the rubella syn-
drome.
Brit. med. J., 1964, 155-160.
- 29 - FABIYI A., SEVER J.L. et coll. -
Rubella virus : growth characteristics ans stabi-
lity of infectious virus and complement-fixing
antigen.
Proc. Soc. exp. Biol., 1966, 122, 392-396.

- 30 - FIELD A.M., VANDERVELDE E.M., THOMPSON K.M. et HUTCHINSON D.N. :
A comparison of the haemagglutination-inhibition test and the neutralisation test for the detection of rubella antibody.
Lancet, 1967, 2/7508, 182-184.
- 31 - FOURRIER A., CAMIER P. -
Acquisitions récentes sur la rubéole congénitale.
Lille Med., 1967, 12, n° spéc., 1072-8.
- 32 - FURUKAWA T., PLOTKIN S.A., SEDWICK D., PROFETA M. -
Haemagglutinin of rubella virus.
Nature, 1967, 215, 172-173.
- 33 - GREGG -
Congenital cataract following German Measles in mother.
Trans. Ophth. Soc. Australia, 1941, 3, 35.
- 34 - GUNALP A. -
Growth and cytopathic effect of rubella virus in a line of green monkey kidney cells.
Proc. Soc. exp. Biol., 1965, 118, 85-90.
- 35 - HABEL K. -
Transmission of rubella to Macacus malatta monkeys.
Publ. Health rep., 1942, 57, 1126.
- 36 - HALONEN P.E., CASEY H.L., STEWART J.A., HALL A.D. -
Rubella complement fixing antigen prepared by alkaline extraction of virus grown in suspension culture of BHK-21.
Proc. Soc. exp. Biol., 1967, 12, n° 1, 167-172.
- 37 - HALONEN P.E., RYAN J.M., STEWART J.A. -
Rubella hemagglutinin prepared with alkalin extraction of virus grown in suspension culture of BHK-21 cells.
Prod. Soc. Exp. Biol. Med. USA, 1967, 125, n° 1, 162-7.

- 38 - HALONEN PE., STEWART JA., HALL AD. -
Rubella hemagglutinin prepared in serum-free
suspension culture of BHK-21 cells.
Ann. Med. Exp. Fenn., 1967, 45/2, 182-185.
- 39 - HEGGIE A.D. -
Rubella current concepts in epidemiology and
teratology.
Ped. Clin. N. Amer., 1966, 13, 251.
- 40 - HEGGIE A.D., ROBBINS F.C. -
Experimental rubella in rhesus monkeys.
Proc. Soc. Biol. Med., 1963, 114, 750-752.
- 41 - HENRY Mme M., SOHIER R. -
Enquête immunologique sur la rubéole.
Rev. Hyg. Med., 1967, 15, n° 3, 255-66.
- 42 - HOLMES I.H., WARBURTON M.F. -
Is rubella an arbovirus ?
Lancet, 1967, 2, 7528, 1233-36.
- 43 - HOLMES I.H., WARK M.C., JACK J. -
Identification of two possible types of virus
particle in rubella-infected cells.
J. Gen. Virol., 1968, 2, 1, 37-42.
- 44 - HOOFT C., PINTELON J. et coll. -
Considérations sur certains aspects de la rubéole.
Brux. Med., 1968, 48, n° 2, 111-118.
- 45 - HORSTMANN D.M., BANATVALA J.E. et coll. -
Maternal rubella and the rubella syndrome in
infants. Epidemiologic, clinical and virologic
observations.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 408-415.
- 46 - HULL R.N. et BUTORAC G. -
The utility of rabbit kidney cell strain LLC-RK 1
to rubella virus studies.
Amer. J. Epidemiol. 1966, 83, 509-517.

- 47 - INGALLS T.M., BABOTT F.L., HAMPSON K.W.
et GORDON J.E. -
Rubella ; its epidemiology and teratology.
Am. J. Med. Sc., 1960, 239-363.
- 48 - JAMI J. -
Fréquence de l'immunité contre la rubéole dans
une population féminine adulte de la région pari-
sienne.
Presse Med., 1968, 76, 21, 995-996.
- 49 - LAMY M., SEROR M.E. -
Résultats d'une enquête sur les embryopathies
d'origine rubéolique.
Rev. Hyg. Med. Soc. Paris, 1959, 7, 88.
- 50 - LENNETTE E.H., WOODIE J.D. et coll. -
A modified indirect staining technique for the
demonstration of rubella antibodies in human sera.
J. lab. clin. med., 1967, 69, 689-695.
- 51 - LEERHOY J. -
Cytopathic effect of rubella virus in a rabbit-
cornea cell line.
Science, 1965, 149, 633-634.
- 52 - LEERHOY J. -
Neutralization of rubella virus in a rabbit cornea
cell line (SIRC).
Acta pathol. microbiol. scand., 1966, 67, 1,
158-9.
- 53 - LIEBHABER H., RIORDAN J.T., HORSTMANN
D.M. -
Replication of rubella virus in a continuous line
of african green monkey kidney cells.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 1967,
125/2, 636-642.
- 54 - LUNDSTROM R. -
Rubella during pregnancy : a follow-up study of
children born after an epidemia of rubella in
Sweden 1951.
Acta Paed., 1962, suppl. 133, 51, 1.

- 55 - MAASSAB H.F. et COCHRAN K.W. -
Influence of 5-floro-2-deoxyuridine on growth characteristics of rubella virus.
Proc. Soc. exp. Biol., 1964, 117, 410-413.
- 56 - MAASSAB H.F. et COCHRAN K.W. -
Ruvella virus inhibition in vitro by amantadine hypochloride.
Science, 1964, 145, 1443-1444.
- 57 - Mc CARTHY K., TAYLOR-ROBINSON C.H. -
Rubella.
Brit. med. bull., 1967, 23, 185-191.
- 58 - Mc CARTHY K., TAYLOR-ROBINSON CH.-
Arch. Ges. virusforsch, 1965, 16, 415.
- 59 - Mc CARTHY K., TAYLOR-ROBINSON C.H.,
PILLINGER S.E. -
Isolation of rubella virus from cases in britain.
Lancet, 1963, 7308, 593-8.
- 60 - Mc COMBS R.M., RAWLS W.E. -
Density gradient centrifugation of rubella virus
J. of Virol., 1968, 2,5,409-414.
- 61 - Mc DONALD J.C., PECKHAM C.S. -
Gammaglobulin in prevention of rubella and congenital defect : a study of 30 000 pregnancies.
Brit. Med. J., 1967, 3/5566, 633-637.
- 62 - MAGNUSSON P., SKAARET P. -
Purification of rubella virus.
Arch. Ges. Virusforsch, 1967, 20, 374-382.
- 63 - MANSON M.M., LOGAN W.P.D., LOY R.M. -
Report on public health and medical subjects.
H.M.S.O., n° 101, 1960.
- 64 - MARCUS P.L. et CARVER D.H. -
Hemadsorption negative plaque test : new assay for rubella virus revealing a unique interférence.
Science 1965, 149, 983-986.

- 65 - MARTIN Du Pan R., PEETERMANS J., HUYGELEN C. -
Rubella, immunological study and vaccination.
Rev. Med. Suisse Rom., 1967, 87, 10, 762-766.
- 66 - MEYER H.M. Jr., PARKMAN P.D., PANOS T.C. -
II-Production of an experimental live-virus vaccine and clinical trial.
New Engl. J. Med., 1966, 275, 575-580.
- 67 - MONIF G.R.G., AVERY G.B., KORONES S.B., SEVER J.L. -
Post-mortem isolation of rubella virus from three children with rubella syndrome defects.
Lancet, 1965, 1, 723-724.
- 68 - NAEYE R.L. et BLANC W. -
Pathogenesis of congenital rubella.
J. Amer. Med. Ass., 1965, 194, 1277.
- 69 - NETTER R. et HENRY Mme (Paris) -
Titration des anticorps antiviral dans des immunoglobulines distribuées en France.
Rev. Hyg. Med. Soc., 1968, 16, 1, 51-59.
- 70 - NEVA F.A., WELLER TH. -
Rubella interferon and factors influencing the indirect neutralisation test for rubella antibody
J. Immunol. , 1964, 93, 466-473.
- 71 - NICOLAS M.A. -
Méthodes de laboratoire appliquées au diagnostic de la rubéole. La technique d'inhibition de l'hémagglutination.
Lyon Méd., 1967, 27, 218, 19-54.
- 72 - NORRBY E., MAGNUSSON P., FRIDING B. et coll. -
A note on the morphology of rubella virus.
Arch. Ges. Virusforsch., 1963, 13, 421-424.

- 73 - OXFORD J. -
Publ. Hlth. Lond., 1966, 80, 271.
- 74 - OXFORD J.S., POTTER C.W. et SUTTON R.N.P.
Determination of the type of nucleic acid in
rubella virus using 5-Bromre-2'-deoxyuridine.
Nature, 1965, 207, 324-326.
- 75 - OXFORD J.S. et SCHILD G.C. -
Growth of rubella virus in the hamster. *Meso-
cricetus auratus*.
Virology, 1966, 28, 780-782.
- 76 - PARKMAN P.D., BUESCHER E.L., ARTENS-
TEIN M.S. -
Recovery of rubella virus from army recruits.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, 111,
225-230.
- 77 - PARKMAN P.D., BUESCHER E.L., ARTENS-
TEIN M.S. et coll. -
Studies of rubella. I-Properties of the virus.
J. Immunol. 1964, 93, 595-607.
- 78 - PARKMAN P.D., MEYER H.M., KIRSCHSTEIN
R.L. -
Attenuated rubella virus. I-Developpement and
laboratory characterization.
New Engl. J. Med., 1966, 275, 569-574.
- 79 - PARKMAN P.D., PHILLIPS PE. et MEYER
H.M. Jr. -
Experimental rubella in pregnant monkeys.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 390-394.
- 80 - PARKMAN P.D., MUNDON F.K., Mc COWN et
BUESCHER E.L. -
Studies of rubella. II-Neutralization of the virus.
J. Immunol., 1964, 93, 608-617.
- 81 - PEETERMANS J. et HUYGELEN C. -
Quelques résultats obtenus avec le test d'inhibi-
tion de l'hémagglutination pour la détermination
des anticorps rubéoleux.
Brux. Med., 1967, 49, 1175-79.

- 82 - PEETERMANS J., HUYGELEN C., BOUILLET A. -
Freeze-dried rubella virus hemagglutinating
antigen.
Appl. Microbiol., 1968, 16/1, 154.
- 83 - PEETERMANS J. et HUYGELEN C. -
L'emploi des hématies de pigeon dans le test
de l'hémagglutination de la rubéole.
Pr. Med., 1967, 75, 43, 2177.
- 84 - PHILLIPS C.A., MELNICK J.L., YOW M.D.
et coll. -
Persistence of virus in infants with congenital
rubella and in normal infants with an history of
maternal rubella.
J. Amer. Med. Ass., 1965, 193, 1027-1032.
- 85 - PHILLIPS C.A., MELNICK J.L. et coll. -
Isolation, propagation and neutralisation of
rubella virus in culture of rabbit cornea cells
(SIRC).
Proc. Soc. exp. Biol., 1966, 122, 783-786.
- 86 - PITT D., KEIR E.H. -
Results of rubella in pregnancy.
Med. J. Austr., 1965, 2, 647.
- 87 - PLOTKIN S.A. -
Virologic assistance in the menagement of German
measles in pregnancy.
J.A.M.A., 1964, 190, 4, 265-8.
- 88 - PLOTKIN S.A., BOUE A., BOUE JG. -
The in vitro growth of rubella virus in human
embryo cells.
Amer. J. Epidemiol., 1965, 81, 71-85.
- 89 - RAFAJKO R. et Dorothy zur NEDDEN -
Rubella hemagglutinin prepared in a serial line
of afrikan green monkey kindney cells.
App. Microbiol. May 1968, 803-804.
- 90 - RAFAJKO R.R., POLAKAVETZ et coll. -
Stability of rubella hemagglutinin.
Appl. Microbiol. 1968, 16, 423.

- 91 - REDDICK A. et ROESEL C.E. -
Rubella virus : growth and cytopathic effect in
primary cultures of cells of rabbit embryos.
Science, 1966, 151, 1405-1406.
- 92 - RHIM J.S., SCHELL K. -
Cytopathic and plaque assay of rubella virus
in a line of afrikan green monkey kidney cells
(vero).
Proc. Soc. Exp. Biol. med. (N.Y.), 1967,
125/2, 602-606.
- 93 - RUDOLPH A.J., SINGLETON E.V. et coll. -
Osseous manifestation of congenital syndrome.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 428.
- 94 - RUSSEL B., SELZER G., GOETZE H. -
The particle size of rubella virus.
J. Gen. Virol., 1967, 1, 3, 305-310.
- 95 - SCHELL K., WONG K.T. et coll. -
Production of rubella complement fixing antigen
in BHK-21 cells.
Proc. Soc. exp. Biol., 1966, 123, 832-836.
- 96 - SCHIFF G.M., SEVER J.L. -
Rubella : recent laboratory and clinical advances.
Progr. med. virol. Switz., 1966, 8, 30-61.
- 97 - SCHIFF G.M., SEVER J.L. et HUEBNER R.J. -
Clinical and laboratory findings in experimental
rubella.
Arch. Intern. Med., 1965, 116, 4, 537-543.
- 98 - SCHIFF G.M., SUTHERLAND J.M. et coll. -
Studies on congenital rubella.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 395.
- 99 - SCHIFF G.M., SUTHERLAND J.M., LIGHT I.J.,
BLOOM J.E. -
Studies on congenital rubella.
Amer. J. Dis. Child., 1965, 110, 441-443.

- 100 - SCHMIDT N.J., LENETTE E.H. -
The complement fixing antigen of rubella virus.
Proc. Soc. exp. Biol., 1966, 121, 243-250.
- 101 - SCHMIDT N.J., LENETTE E.M., WOODIE J.D. et coll. -
Identification of rubella virus by immunofluorescent staining.
J. lab. clin. med., 1966, 68, 502-509.
- 102 - SEVER J.L., HUEBNER R.J., CASTELLANO G.A. et coll. -
Rubella complement fixation test
Science, 1965, 148, 385-387.
- 103 - SEVER J.L. et coll. -
Experimental rubella in pregnant rhesus monkeys.
J. Infect. Dis., 1966, 116, 21-26.
- 104 - SEVER J.L., FUCILLO D.A., GITNICK G.L., HUEBNER R.J. et coll. -
Rubella antibody determinations.
Pediatrics, 1967, 40, n° 5, 789-97.
- 105 - SEVER J.L., NELSON K.B. :
Rubella epidemic 1964, effects on 6 000 pregnancies.
Amer J. Dis. Child., 1965, 110, 395.
- 106 - SEVER J.L., SCHIFF G.M. -
Comparison of indirect and direct methods for detection of rubella virus and antibody.
Symp. inter. sur la standardisation des vaccins contre la rougeole et la sérologie de la rubéole. LYON, 1964, 126-129.
- 107 - SEVER J.L., SCHIFF G.M., TRAUB R.G. -
Rubella virus.
J. Amer. Med. Ass., 1962, 182, 663-671.
- 108 - SHERIDAN M.D. -
Final report of prospective study of children whose mother had rubella in early pregnancy.
Brit. Med. J., 1964, 2, 536.

- 109 - SOHIER R. -
Diagnostic des maladies à virus.
Ed. Méd. Flammarion-Mise à jour 1966,
p. 697 h.
- 110 - STERN H. -
Rubella complement fixation test.
Nature, 1965, 208, 200-201.
- 111 - STEWART G.L., PARKMAN P.D. et coll. -
Rubella virus hemagglutination-inhibition test.
New Engl. J. Med., 1967, 276, 554-557.
- 112 - THIRY L; et DACHY A. -
La rubéole.
Brux. Med., 1967, 49, 1159-75.
- 113 - TONDURY G., SMITH D.W. -
Fetal rubella pathology.
J. Pediatr., 1966, 68, 6, 867-79.
- 114 - TONNEL A., DUBOIS D., BLIN C., WATTRE P.,
SAMAILLE J. -
La réaction d'inhibition de l'hémagglutination et
son application au diagnostic biologique de la
rubéole.
Ann. Inst. Pasteur, Lille, 1967, 18, 143-152.
- 115 - TRON P. -
Rubéole congénitale. II-Etude clinique.
Arch.fr.Pédiatr., 1967, 24, 3, 351,362.
- 116 - VAHERI A., SEDWICK W.D., PLOTKIN S.A.
et MAES R. -
Cytopathic effect of rubella virus in BHK 21 cells
and growth to high titers in suspension culture.
Virology, 1965, 27, 239-241.
- 117 - VERONELLI J.A. -
Studies of rubella.
Dissert. abstract. 1967, 27, 10, 3581-2.

- 118 - VERONELLI J.A., ECKERT E.A. -
A new technique for preparation of rubella complement fixing antigen.
Proc. Soc. exp. Biol., 1966, 121, 1223-1227.
- 119 - VERONELLI J.A., MAASSAB H.F. -
Arch. Ges. virusforsch., 1965, 16, 426.
- 120 - WARKANY J., KALTER H. -
Congenital malformations.
New Engl. J. Med., 1962, 265, 993.
- 121 - WELLER T.H., NEVA F.A. -
Propagation in tissue culture of cytopathic agents from patients with rubella like illness.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, 111, 215-225.
- 122 - WELLER T.H., NEVA F.A. -
Arch. Ges. virusforsch., 1965, 16, 393.
- 123 - W.H.L. collaborative study on the sero-epidemiology of rubella.
Bull. Wld. Hlth. Org., 1967, 37, 1, 79-88.
-

OUVRAGES CONSULTÉS

- Diagnostic des maladies à virus :
R. SOHIER - Editions médicales Flammarion,
mise à jour 1966, 697.
- Virologie médicale :
G. MOUSTARDIER - Librairie Maloine, 1966, 270.
- Techniques de laboratoire en virologie humaine :
P. LEPINE - Masson, 1965, 212-394.
- Isolement et étude des virus dans l'oeuf embryonné
et en cultures cellulaires :
G. CATEIGNE et J. MAURIN - Collection "Techniques de base" - Editions de la Tourelle, 1965, 71 - 86.

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
<u>DEDICACES</u>	
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>CHAPITRE I</u>	
Mise au point sur le virus de la rubéole.....	4
<u>CHAPITRE II</u>	
Etude de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination appliquée au dia- gnostic immunologique de la rubéole.....	33
<u>CHAPITRE III</u>	
Intérêt du dépistage des anticorps anti- rubéoleux et prophylaxie de la rubéole...	46
<u>CONCLUSIONS</u>	58
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	I

